DAS VERHALTEN DER SOGENANNTEN INDUZIERBAREN HISTIDINDECARBOXYLASE BEIM ENDOTOXINSCHOCK UND IHRE ENDOKRINE BEEINFLUSSUNG

Lothar Gielow

1968

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München
Direktor: Prof. Dr. W. Büngeler

Das Verhalten der sogenannten induzierbaren Histidin-decarboxylase beim Endotoxinschock und ihre endokrine Beeinflussung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Lothar Gielow
aus München

München 1968

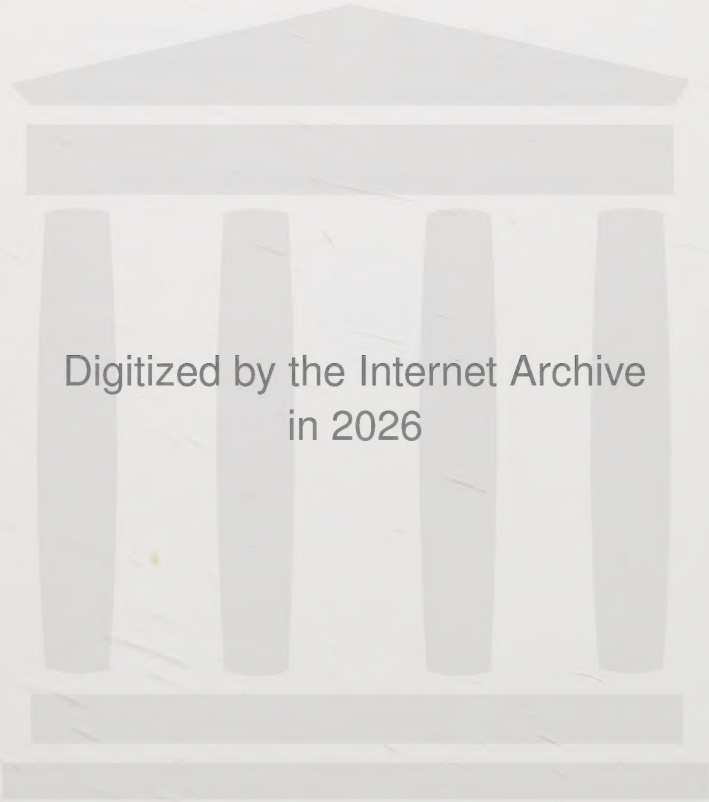
Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Priv.-Doz.Dr.A.SCHAUER
Mitberichterstatter:	Prof.Dr.W.BÜNGELER
Dekan:	Prof.Dr.F.MARGUTH

Tag der mündlichen Prüfung: 1.10.1968

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Meinen Eltern gewidmet


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545804_0111

Inhalt

Seite

E i n l e i t u n g 1

E x p e r i m e n t e l l e r T e i l 4

A. Fluorometrische Untersuchungen 4
I. Material und Methode 4
1. Versuchsbedingungen 4
2. Spektrofluorometrische Histaminbestimmung 6
II. Ergebnisse 7
III. Zusammenfassung 18
IV. Diskussion der beiden verwendeten Methoden 18

B. Untersuchungen mit der Isotopendilutionsmethode 20
I. Material und Methode 20
1. Versuchsbedingungen 20
2. Histaminbestimmung mit der Isotopendilutionsmethode 23
II. Ergebnisse 25
1. Normale Histidindecarboxylase (HDC)-Aktivität in der Rattenlunge und deren Steigerung nach Endotoxingabe 25
2. HDC-Aktivität im Serum normaler und endotoxinbehandelter Ratten 25
3. Beeinflussung der nach Endotoxingabe gesteigerten HDC-Aktivität der Rattenlunge durch Glucocorticoide 26
4. Beeinflussung der HDC-Aktivität der Rattenlunge nach Endotoxingabe durch somatotropes Hormon 27
5. Die HDC-Aktivität in der Mäuselunge im Endotoxinschock und ihre Beeinflussung durch Glucocorticoide 27
6. Zeitliches Verhalten der HDC-Aktivität in der Mäuselunge und der Plasmacorticosteronkonzentration von Mäusen im Endotoxinschock 29

7. Das Verhalten der HDC-Aktivität in der Rattenleber und Rattenmilz nach Endotoxingabe 30
8. Verhalten der HDC-Aktivität unbehandelter Ratten nach Adrenalingabe 33
9. Verhalten der HDC-Aktivität der Mäuselunge im Endotoxinschock nach Gabe von Actinomycin C und Cycloheximid 33
10. Anhang 34
III. Zusammenfassung 37

Theoretischer Teil 39

A. Der Schock 39

B. Bakterielle Endotoxine 41

C. Die Bedeutung der sog. induzierbaren Histidindecarboxylase beim Endotoxinschock 48

D. Die Beeinflussung der sog. induzierbaren Histidindecarboxylase durch körpereigene Hormone 60

Schluss 64

Literaturverzeichnis 65

Lebenslauf 82

1907 hatten WINDAUS und VOGT zum ersten Mal das Histamin als Imidazolyläthylamin (118) synthetisiert, ohne von seiner physiologischen Bedeutung zu ahnen. 1910 erkannten fast gleichzeitig ACKERMANN (1) sowie DALE und BARGER (3) die Wirkung des Histamin auf die glatte Muskulatur. ACKERMANN erhielt die Substanz als Decarboxylierungsprodukt der Aminosäure Histidin durch Bakterien (1), BARGER und DALE isolierten sie aus Mutterkornextrakten (3).

In der Folgezeit wurde das Histamin als "Toxin", d.h. als Gefäßgift, angesehen und niemand nahm zunächst an, daß die Substanz im Körper von Säugetieren gebildet wird; die im tierischen Organismus nachgewiesenen Mengen sah man als resorbiertes Produkt von Darmbakterien an. Noch 1956 lehnte WATON (104) die Histaminbildung im Körper bei verschiedenen Säugetierspezies ab.

1929 machte DALE (14) wahrscheinlich, daß der von LEWIS (59, 60) als H-Substanz bezeichnete Stoff Histamin ist und daß auch eine Antigen-Antikörperreaktion zur Freisetzung von Histamin führt (14). Die zentrale Bedeutung des Histamin bei der Anaphylaxie wurde durch FELDBERG (21) gesichert. 1937 wurde daraufhin das erste Antihistaminicum gefunden (101). Der Sitz dieser rasch freisetzbaren Form des Histamin blieb noch lange unbekannt.

WERLE war 1936 (110) der erste, der die Decarboxylierung des Histidin im Säugetierorganismus nachwies. Er führte seine Untersuchungen an der Meerschweinchenniere und der Kaninchenleber durch. Wie sich erst in den letzten Jahren herausstellte, hatte er ein unspezifisches Enzym, eine allgemeine Aminosäuredecarboxylase, entdeckt, die alle Aminosäuren angreift, nur mit unterschiedlicher Intensität (109).

Obwohl die umsetzbaren Mengen gering waren, wurden in der Folgezeit verschiedene physiologische und pathophysiologische Funktionen der Substanz diskutiert, z.B. bei der Magensaftsekretion und der Erregungsübertragung im Nervensystem, ohne daß sich eine der Theorien zufriedenstellend bestätigen ließ. Als sog. Schockgift war Histamin schon früher abgelehnt worden (15, s.a.S.48).

Angesichts dieser Situation sprach ROCHA E SILVA in einem umfassenden Referat (75) davon, daß man sich nach fast 50 Jahren Histaminforschung des Eindrucks nicht erwehren könne, es liege noch immer ein "tiefes Mißverständnis" der Histaminfunktion vor, da man eine Substanz besaß, die durch ihre bekannten Wirkungen vor allem an der glatten Muskulatur und am Kapillarendothel in der Lage war, all die akuten und verzögerten Reaktionen bei Schock und Entzündung hervorzurufen, man ihr aber experimentell eine entscheidende Bedeutung nicht zuweisen konnte.

Eine Entdeckung, die wesentliche neue Gesichtspunkte brachte, war die Erkennung der Mastzelle als größten Histaminspeichers des Organismus und der Nachweis einer spezifischen Histidindecarboxylase in dieser Zelle (74, 81). Damit konnte man rasch ablaufende Vorgänge, wie die akute Entzündung, die erste Phase des anaphylaktischen Schocks, und andere primäre Schockformen zum Teil erklären, nicht jedoch verzögerte Reaktionen wie die langsame Phase der Entzündung und das Geschehen beim protrahierten Kollaps.

Neuerdings haben nun SCHAYER und KAHLSON auf das Vorkommen einer "induzierbaren", nicht mastzellgebundenen Histidindecarboxylase hingewiesen. Während SCHAYER die große Bedeutung des gebildeten "induzierten" Histamin für die Regulierung der terminalen Strombahn unter physiologischen und pathologischen Bedingungen besonders während des Schockablaufes postulierte (85), fand KAHLSON das Enzym bei vielen mit starker Proliferation verbundenen Vorgängen, wie Wundheilung (53) und Tumorwachstum, sowie in fetalen Or-

ganen (55). Auf dem 22. Internationalen Kongreß für Physiologie in Leiden 1962 wurde diesen Befunden widersprochen (112), so daß eine weitere Klärung notwendig schien. Wegen der großen Bedeutung, die dieses Enzym für die autonome Regulierung der terminalen Strombahn unter physiologischen und pathologischen Bedingungen haben kann, haben wir zunächst versucht, die entscheidenden dieser Befunde zu bestätigen, um danach mit Hilfe neuer Versuchsanordnungen weitere Aufschlüsse über das Enzymverhalten und seine Beeinflussung beim Schock und der Entzündung zu erhalten.

E X P E R I M E N T E L L E R T E I L

A. FLUOROMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN

1. Es wurde das Verhalten der Histidindecarboxylase-(HDC)-Aktivität des Rattenmesenterium nach intraperitonealer Injektion von Hühnereiweiß untersucht.
2. Es wurde die HDC-Aktivität des Rattenmesenterium nach intraperitonealer Gabe subletaler Dosen von Endotoxin geprüft.
3. Untersucht wurde ferner die sog. induzierbare HDC in der Rattenlunge während des Entzündungsprozesses nach 3-stündiger Crotonölinhalation.

I. Material und Methode

1. Versuchsbedingungen: Weibliche Sprague-Dawley-Ratten von 200 - 250 g Gewicht erhielten 3 ml einer mit Aq. dest. 1:5 bzw. 1:10 verdünnten Lösung von Hühnereiweiß intraperitoneal injiziert und wurden nach unterschiedlichen Zeiträumen getötet. Das Mesenterium wurde entnommen, sofort tiefgekühlt und einschließlich der Fettsepten weiterverwendet.

Bei den Versuchen mit Endotoxin wurde das E. coli Lipopolysaccharid (Immunologisches Institut der Universität Freiburg) nach Vorschrift verdünnt (114), die Stammlösung wurde im Kühlschrank aufbewahrt.

Weibliche Ratten von etwa 200 g Gewicht erhielten 0,8 mg Endotoxinstammlösung intraperitoneal injiziert (entsprechend 0,4 mg Endotoxin pro Tier) und wurden nach 2 - 24 Stunden, in der Regel nach 6 Stunden, getötet. Den Kontrolltieren wurden jeweils nur die Lösungsmittel intraperitoneal injiziert.

Bei den Entzündungsversuchen an der Lunge wurden die Tiere in einen Exsiccator gebracht, der über einen Gummischlauch mit einem Handzerstäuber verbunden war, in dem sich 1:5 verdünntes Crotonöl befand. Das Crotonöl wurde sehr fein im Exsiccator versprüht, so daß sich die Tiere (weibliche Sprague-Dawley-Ratten von 150 - 250 g Gewicht) 3 Stunden in einer Crotonölatmosphäre befanden.

Die Lungen wurden dann nach 1 - 24 Stunden mit sterilen Instrumenten entnommen, sofort tiefgekühlt und weiterverarbeitet. Die histologische Untersuchung der Lungen ergab regelmäßig eine schwere katarrhalische, z.T. hämorrhagische Bronchitis, sowie kleine pneumonische Herde mit leukozytärer peribronchialer Infiltration.

Das Gewebe wurde mit m/15 Phosphatpuffer im Verhältnis 1:8 bis 1:10 verdünnt und mit einem Ultraturrax-Homogenisator homogenisiert. Das Homogenat wurde 20 Minuten bei 5 500 U/min. zentrifugiert und der leicht opaleszente Überstand weiterverwendet. Die untersuchte Histidindecarboxylase (HDC) ist ein nicht an Zellorganellen gebundenes Enzym, was sich besonders an untersuchten Mastzelltumoren (P 815 und Furth-Tumor) nachweisen ließ.

Bei jedem Versuch wurden 2 Nullansätze mit inaktiviertem Enzym, von denen einem exogenes Substrat zugesetzt wurde, ferner 2 sog. Leeransätze mit aktivem Enzym ohne Substratzusatz und 2 Hauptansätze, die exogenes Substrat enthielten, geprüft.

Den Ansätzen wurden 100 µg Tetracyclin (Bayer, Leverkusen) zur Hemmung des Bakterienwachstums zugegeben, die HDC wird in der vorliegenden Konzentration nicht beeinflußt. Zur Hemmung von Aminooxydasen enthielten die Ansätze Aminoguanidin in 10^{-4} bis 5 x 10^{-4}m Endkonzentration (Hemmung der Diaminoxydase in 10^{-4}m Endkonzentration zu 85%; in 5 x 10^{-4}m Endkonzentration zu 100% (62)).

Das Coenzym Pyridoxalphosphat (Fluka, Buchs/Schweiz) wurde in vielen Versuchen zum Ausgleich eines eventuell bestehenden Coenzymmangels im untersuchten Gewebe in 4 x 10^{-5}m Endkonzentration (10 µg/ml Inkubat) verwendet.

Als Substrat enthielten die Ansätze Histidindihydrochlorid (Merck, Darmstadt) und zwar 20 µg, 35 µg oder 1000 µg pro ml Inkubat. Das entspricht in gleicher Reihenfolge einer molaren Endkonzentration der Histidinbase von 9 x 10^{-5}m, 1,4 x 10^{-4}m bzw. 4,3 x 10^{-3}m. Die zur Kontrolle der Ausbeute verwendete Histaminlösung war in 0,1n HCl, das Aminoguanidin in m/15 Phosphatpuffer, pH 7,2, gelöst. Alle übrigen Substanzen wurden für jeden Versuch neu angesetzt.

Die 3-stündige Inkubation wurde im Warburg-Gerät unter Stickstoffatmosphäre bei 37°C. durchgeführt. Anschließend wurde mit 0,6 ml 3n Perchlorsäure enteiweißt und die Ansätze nochmals 20 Minuten bei 5 500 U/min. zentrifugiert. Der klare Überstand wurde für die Histaminbestimmungen verwendet. Die Nullwerte waren bereits vor Beginn der Inkubation mit 3n Perchlorsäure inaktiviert worden. Als Leerwerte werden, wie erwähnt, die Ansätze bezeichnet, die kein Substrat erhielten, und die somit die Histaminbildung aus endogenem - im Gewebe enthaltenem - Histidin anzeigen.

2. Spektrofluorometrische Histaminbestimmung (97): 2 ml des klaren Überstandes wurden zu 0,5 ml 5n NaOH, 1,5 mg festem NaCl und 10 ml n-Butanol (Merck) gegeben. Das Gefäß wurde mit der Hand 7 Minuten lang verschlossen geschüttelt, zentrifugiert, dann wurde die wässerige Phase abgesaugt und verworfen. Die organische Phase wurde 5 Minuten mit 5 ml NaCl-gesättigter 0,1n NaOH-Lösung geschüttelt, um das restliche Histidin zu entfernen, dann zentrifugiert. 5 ml der organischen Phase wurden zusammen mit 4,5 ml 0,1n HCl und 10 ml n-Heptan (Merck) nochmals 5 Minuten mit der Hand geschüttelt und zentrifugiert. 1 bzw. 2 ml der wässerigen Phase wurden dann zum fluorometrischen Histaminnachweis weiterverwendet.

Die HCl-Lösung wurde mit 0,4 ml 1n NaOH alkalisiert, dann wurde 0,1 ml o-Phthaldialdehyd (Fluka, Buchs/Schweiz, 1%ige Lösung in Methanol) zugegeben. Das entstehende fluoreszierende Produkt wurde nach 4 Minuten durch Ansäuern mit 0,2 ml 3n HCl stabilisiert. Nach Umgießen in Quarzküvetten wurde die Intensität der Fluoreszenz am Zeiss-Fluoreszenzspektrometer bei 450 mμ Wellenlänge nach Excitation bei 360 mμ gemessen. Die erhaltenen Werte wurden durch Kontrollansätze mit bekannten Histaminmengen, zu denen der o-Phthaldialdehyd in saurem Milieu gegeben wurde, korrigiert, da im sauren pH-Bereich das Kondensationsprodukt zwar nicht entsteht, eine geringe Restfluoreszenz jedoch vorhanden ist. Parallel zu allen Versuchen wurden Histaminausbeutebestimmungen durchgeführt. Die Ausbeute lag konstant bei 80 - 85%. Die am Fluorometer erhaltenen Werte wurden auf μg Histamin/g Gewebe umgerechnet.

II. Ergebnisse

Die ersten Untersuchungen wurden am Mesenterium durchgeführt. Fettfreie Mesenterialfelder wurden auf Objektträger aufgezogen und histologisch untersucht, wobei Hämatoxylin-Eosin- und Toluidinblau-Färbungen angefertigt wurden. Hierbei zeigte sich nach Eiweißinjektion schon nach kurzer Zeit eine Entgranulierung der Mastzellen und darüberhinaus eine ausgeprägte Hyperämie sowie herdförmige Leukozyteninfiltrate, vor allem perivasculär. Diese Befunde entsprechen dem Bild einer akuten Entzündung.

Tab. 1: Histamingehalt und Histaminbildung des normalen Rattenmesenterium (µg/g Gewebe).

Vers.-Nr.	Histamin-gehalt	endogene Histamin-bildung	exogene Histamin-bildung*
1	2,2	0,3	1,8
2	2,2	-	0,8
3	2,2	-	0,48
4	5,7	-	0,15
5	6,9	-	0
6	7,4	-	3,0
7	3,3	0,83	3,85
8	3,3	0,28	0,83
9	2,75	1,18	0
10	1,92	0,27	0
11	2,65	2,75	1,7
Mittel-werte:	3,68	0,94	1,14

*Substratkonzentration: 1 mg Histidindihydrochlorid/ml Inkubat.

Vers.-Nr.	Histamin-gehalt	endogene Histamin-bildung	exogene Histamin-bildung**
12	2,79	2,02	1,12
13	2,78	0,13	0,45
14	4,12	0	0
15	2,2	0	0,55
Mittel-werte:	2,97	0,54	0,52

**Substratkonzentration: 0,035 mg Histidindihydrochlorid/ml Inkubat.

Daß der Histamingehalt im Gewebe von Tier zu Tier stark wechselt, ist bekannt (97). Eine geringe Histaminbildung war konstant nachweisbar, 2 Leerwerte, die die Bildung aus endogenem Histidin anzeigen sollen (Tier 11 und 12) sind gegenüber den anderen Werten ohne ersichtlichen Grund stark erhöht. Werte unter 0,2 µg/g Gewebe liegen innerhalb der Fehlerbreite der Methode.

Tab. 2: Histamingehalt und Histaminbildung des Rattenmesenterium nach Injektion von Hühnereiweiß (µg/g Gewebe).

Vers.-Nr.	Eiweißmenge (ml)	Zeitraum bis zum Töten d. Tieres (Std.)	Histamingehalt	endogene Histaminbildung	exogene Histaminbildung*
1	0,3	2	1,5	-	-
2	0,3	4	2,0	-	1,0
3	0,3	4	1,55	-	0,7
4	0,4	4	6,4	-	0
5	0,4	4	6,4	0,55	1,5
6	0,4	4,5	4,4	0,55	1,1
7	0,4	5	3,2	0	2,75
8	0,4	5	4,13	0	0,41
9	0,5	3	2,6	-	0,24
10	0,5	3	5,62	-	0,68
11	0,5	4	6,1	-	0,4

*Substratkonzentration: 1 mg Histidindihydrochlorid/ml Inkubat.

Vers.-Nr.	Eiweißmenge (ml)	Zeitraum bis zum Töten d. Tieres (Std.)	Histamingehalt	endogene Histaminbildung	exogene Histaminbildung**
12	0,4	4	2,31	0	0,55
13	0,4	4,5	2,42	0	0
14	0,4	5	1,68	1,37	0
Leber 14	0,4	5	0,77	0	0
Lunge 14	0,4	5	2,1	0	(0) fällt ab

** Substratkonzentration: 0,035 mg Histidindihydrochlorid pro ml Inkubat.

Aus dem Vergleich der beiden Tabellen ergibt sich, daß der Histamingehalt des Gewebes im Durchschnitt zurückgegangen ist, was man wohl auf die Mastzellentspeicherung und den Abtransport bzw. Abbau des biogenen Amins zurückführen darf. Die Histaminbildung ist demgegenüber weder signifikant vermehrt noch vermindert ($p > 0,05$). Die angebotene Substratmenge von 1 mg/ml Inkubat war eher gering, da TELFORD und WEST (102) von einer linearen Steigerung der Histaminbildung bis zu einem Angebot von 15 mg Histidin/ml Inkubat berichten ($6,5 \times 10^{-2}$m Endkonzentration), eine Menge, bei der uns die Gefahr der Substrateigenhemmung sehr groß schien. Dennoch wurden bei einer noch geringeren Substratkonzentration (30 µg/ml Inkubat) zusätzlich Untersuchungen durchgeführt, um etwa "physiologische" Substratkonzentrationen - wie sie bei Isotopenmethoden immer Anwendung finden - zu schaffen und eine beim untersuchten Enzym, nämlich der sog. induzierbaren HDC, vielleicht sehr starke Substrateigenhemmung oder Komplexbildung zwischen Substrat und Coenzym auszuschalten. Nach neueren Untersuchungen betragen jedoch die endogenen Histidinkonzentrationen schon bis zu 100 µg/g Gewebe (111).

In den nun folgenden Versuchen wurden Ratten subletale Dosen von Endotoxin intraperitoneal verabreicht und bei gleicher Versuchsanordnung die Histaminbildung untersucht.

Da wir an eine verstärkte Aktivität des Enzyms bei acidotischer Stoffwechsellage (z.B. Entzündung) dachten, wurde versucht, ein pH-Optimum zu bestimmen, wobei besonders saure pH-Werte Berücksichtigung fanden. Dies erbrachte keine Aktivitätssteigerung, so daß weiter bei pH 7,2 gearbeitet wurde. Die Ratten erhielten 0,6 mg E. coli Lipopolysaccharid intraperitoneal, nach 4 Stunden wurde das Mesenterium entnommen und untersucht. Die Gewebskonzentrationen des Histamin lagen im Bereich der normalen Schwankungsbreite. Histaminbildung in µg/g Gewebe bei normalen Tieren (35 µg Histidin/ml Inkubat): 0 (pH 5,7); 0,12 (pH 5,7); 0,27 (pH 6,0); 0,15 (pH 6,0); 0,37 (pH 7,4).

Tab.3: Histamingehalt und Histaminbildung im Rattenmesenterium nach Verabreichung subletaler Dosen von E. coli Lipopolysaccharid (µg/g Gewebe).

Vers.-Nr.	Endotoxinmenge (mg)	Zeitraum bis zum Töten d. Tieres (Std.)	Histamingehalt	endogene Histaminbildung	exogene Histaminbildung*
1	0,4	4	1,37	0,87	0,38
2	0,4	4	1,76	-	0
3	0,4	4	2,31	0,27	0,28
4	0,4	4	3,19	0,37	0
5	0,4	4	1,53	0,75	0,95
6	0,4	4	1,19	0	0
7	0,4	4	2,31	0	0
8	0,4	4	2,35	1,15	0
Mittelwerte:			2,0	0,48	0,21

*Substratkonzentration: 0,035 mg/ml Inkubat.

Die gegenüber dem Normalen erniedrigten Gewebskonzentrationen sprechen wiederum für eine Entspeicherung der Mastzellen, die sich auch histologisch belegen ließ. Die Histaminneubildung scheint eher ab- denn zuzunehmen; außerdem sind die Werte, die über die exogene Histaminbildung Auskunft geben, gegenüber den Parallelwerten ohne Substrat erniedrigt, was nach neueren Befunden (111) allerdings nicht mehr überrascht. Die im Gewebe vorhandenen Konzentrationen an freiem Histidin betragen nämlich, wie erwähnt, bis zu 100 µg/g Gewebsprotein und dürften bei Zuständen mit erhöhter Kapillarpermeabilität, zumal bei gleichzeitiger Mastzellzerstörung, infolge der Aktivierung von Proteinasen und Peptidasen noch erhöht sein.

Um die Histaminneubildung besser zu erkennen, wurden Versuchsreihen angeschlossen, bei denen das homogenisierte Gewebe (Menge 8 - 10 ml) vor der Inkubation teils gegen m/15 Phosphatpuffer, pH 7,2, teils gegen destilliertes Wasser unterschiedlich lange dialysiert wurde. Dabei wird sowohl das endogene Histidin als auch das endogene Histamin ausgewaschen und somit deren Gewebskonzentration erniedrigt. Da das Coenzym mit ausgeschwemmt wird, setzten wir diesen Ansätzen mehr Pyridoxalphosphat (30 µg/ml Inkubat) zu, i.e. die dreifache der bisher verwendeten Konzentrationen. Die Dialyseflüssigkeiten wurden mit Ausnahme der 24-stündigen Dialysen, die nachts 8 Stunden lang weiterliefen, stündlich bis zweistündlich gewechselt. Außerdem enthielten sie Tetracyclin (50 µg/ml), da längere Dialysen immer das Bakterienwachstum begünstigen. Dialysiert wurde im Kühlschrank mit dem Magnetrührer in 5 l - Glaszylindern.

Tab. 4: "Histamingehalt" und Histaminbildung im Rattenmesenterium nach unterschiedlich langer Dialyse (µg/g Gewebe).

Versuchs-Nr.	1	2	3	4	5
Dialyse-flüssigkeit	Puffer	Aq. dest.	Puffer	Aq. dest.	Puffer
Dialyse-Zeit (Std.)	3	3	3	22	24
"Histamin-gehalt"	0,56	0,70	0,30	0,28	0,50
"endogene Histamin-bildung"	0	(0,08)	0	-	-
exogene Histamin-bildung*	0,25	(0,02)	0	0,42	0
exogene Histamin-bildung**	-	-	-	2,10	0

*Substratkonzentration: 0,033 mg/ml Inkubat

**Substratkonzentration: 1,0 mg/ml Inkubat.

Auch die Dialyseversuche ließen keine Steigerung der Histaminneubildung erkennen. Die endogene Histaminbildung ist aus verständlichen Gründen fast ganz verschwunden, bei langer Dialyse gegen Phosphatpuffer scheint das Enzym teilweise zerstört zu werden.

Signifikante Erhöhungen der Histaminbildung fehlen bei Tab.5 sowohl gegenüber Tab. 4 als auch gegenüber den früheren Werten.

Tab. 5: "Histamingehalt" und Histaminbildung im Rattenmesenterium nach Endotoxingabe und Dialyse des Homogenats (µg/g Gewebe).

Versuchs-Nr.	1	2	3	4	5	6	7
Endotoxinmenge (mg)	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Zeitraum bis zum Töten d. Tieres (Std.)	4	4	4	4	4	5,5	5,5
Dialyseflüssigkeit	H_2O	Puffer	H_2O	H_2O	H_2O	H_2O	H_2O
Dialysezeit (Std.)	16	17	16	18	3	3	5,5
"Histamingehalt"	0	0,82	1,40	0,42	0,28	0,34	0,30
exogene Histaminbildung*	0,58	0,14	0,56	0,44	0,14	0,28	0
exogene Histaminbildung**	0,28	0,98	0,70	0,42	0,84	0,50	0

*Substratkonzentration: 0,035 mg/ml Inkubat
**Substratkonzentration: 1,0 mg/ml Inkubat.

Das Mesenterium war hauptsächlich wegen der von uns geplanten histologischen Untersuchung der parallel zu der veränderten Histidindecarboxylaseaktivität einhergehenden morphologischen Veränderungen bei Schock und Entzündung gewählt worden.

SCHAYER hatte den Sitz der "induzierbaren" HDC hypothetisch in den Gefäßwänden oder zumindest in perivasculären Zellen vermutet, da er bei verschiedenen unspezifischen Stressituationen die Steigerung der Aktivität des Enzyms mit Ausnahme des Blutes in allen Organen hatte nachweisen können, nur sehr schwach jedoch in peripheren Nerven und in Knorpelgewebe; beides sind spärlich vascularisierte Gewebe (86).

Wir haben daher in den folgenden Versuchen die sehr gut zapillarisierte Lunge untersucht (Versuchsbedingungen s. S. 5). Die bereits zur Untersuchung des Mesenterium verwendeten Versuchsbedingungen wurden beibehalten. Zunächst wurde die pH-Abhängigkeit der Histaminbildung geprüft, die Versuche wurden dann bei pH 7,2 durchgeführt, da sich keine wesentlichen Unterschiede erkennen ließen. Die durchschnittliche Histaminkonzentration mehrerer zusammen homogenisierter und bei pH 7,2 untersuchter Lungen lag bei 3,7 µg/g Gewebe. Darauf sind die folgenden Werte (pH-Reihe) bezogen.

Exogene Histaminbildung (Substratkonzentration 1 mg Histidindihydrochlorid/ml Inkubat) in µg/g Gewebe: 0,77 (pH 5,7); 0,7 (pH 5,8); 0,48 (pH 6,1); 0 (pH 6,6); 0,38 (pH 6,8); 1,3 (pH 6,8); 0,2 (pH7,2); 0,39 (pH 7,2); 0,42 (pH 7,4); 0,23 (pH 7,4); 0,3 (pH 8,0); 0,2 (pH 8,0). Die höchsten Werte fanden sich in dieser Versuchsreihe bei pH 5,7/5,8. Eine ebenso hohe Histaminbildung wurde jedoch später auch bei pH 7,2 gesehen (s. Tab. 6).

Tab. 4: Histamingehalt und Histaminbildung in der Lunge der Ratte (µg/g Gewebe).

Vers.-Nr.	Histamin-gehalt	endogene Histamin-bildung	exogene Histamin-bildung*
1	2,80	0,2	-
2	1,68	0,2	0
3	3,10	0	0,7
4	3,20	0,2	0,2
5	2,80	-	0,2
6	2,60	-	0,45
7	2,00	-	0,44
8	1,90	-	0,18

*Substratkonzentration: 1 mg Histidindihydrochlorid/ml Inkubat.

Andere Untersucher fanden in der Rattenlunge einen von 1,7 bis 6,9 µg/g Gewebe schwankenden Histamingehalt (97).

Tab. 7: Histamingehalt und Histaminneubildung in der Rattenlunge zu verschiedenen Zeitpunkten nach 3-stündiger Crotonölinhalation (µg/g Gewebe).

Vers.-Nr.	Töten nach Crotonöl-inh. (Std.)	Histamin-gehalt	exogene Histamin-bildung*
1	1,5	2,4	0 (pH 7,3) 0,4 (pH 5,7)
2	3,5	2,2	0 (pH 7,4) 0 (pH 6,0)
3	6	1,95	0 (pH 7,4)
4	11	1,3	0 (pH 7,3) 0,25 (pH 6,3)
5	14	1,77	0,65 (pH 7,3) 0 (pH 5,7)
6	14,5	2,0	0,2 (pH 7,2) 0,43 (pH 5,7)
7	16	1,11	0,33 (pH 7,3) 0,4 (pH 6,0)
8	16	2,2	0,25 (pH 7,2) 0,65 (pH 5,7)
9	19	0,6	0,32 (pH 7,2) 0,36 (pH 6,5)
10	19,5	1,6	0,2 (pH 7,2) 0,2 (pH 6,0)
11	24	1,35	0,65 (pH 7,3) 0,41 (pH 6,2)
12	24	0,67	0,42 (pH 7,2) 0,44 (pH 5,7)
13	48	1,4	0,25 (pH 7,3) 0,5 (pH 5,95)

*Substratkonzentration: 1 mg Histidindihydrochlorid/ml Inkubat.

Auch hier wurde die Substratkonzentration nochmals variiert und geringere "physiologische" Mengen zugegeben.

Tab. 8: Histamingehalt und Histaminneubildung in der Lunge der Ratte (µg/g Gewebe).

Vers.-Nr.	Histamin-gehalt	exogene Histamin-bildung*
1	1,55	0,18 (pH 7,5) 0 (pH 6,0)
2	1,11	0,6 (pH 7,5) 0,2 (pH 7,5) 0,4 (pH 5,7)

*Substratkonzentration: 0,02 mg/ml Ansatz.

Tab. 9: Histamingehalt und Histaminneubildung in der Lunge der Ratte 6 und 9 Stunden nach 3-stündiger Crotonölinhalation (µg/g Gewebe).

Vers.-Nr.	Töten nach Crotonöl-Inh. (Std.)	Histamin-gehalt	exogene Histamin-bildung*
1	6	1,30	0,22 (pH 7,2) 0,4 (pH 6,0)
2	9	1,37	0 (pH 7,2) 0 (pH 5,8)

*Substratkonzentration: 0,02 mg/ml Ansatz.

Insgesamt ergab sich auch bei dieser Versuchsreihe keine signifikante Erhöhung der Histaminneubildung.

III. Zusammenfassung

Nach intraperitonealer Eiweiß- oder Endotoxinapplikation bzw. nach Crotonölinhalation fanden sich weder im Rattenmesenterium noch in der Rattenlunge auch nach Variation der Versuchsbedingungen signifikante Änderungen ($p>0,05$) der Aktivität der "induzierbaren" Histidindecarboxylase gegenüber unbehandelten Kontrolltieren.

In vielen im vorigen Abschnitt nicht aufgeführten Versuchen wurden darüberhinaus die Coenzym- und Hemmstoffkonzentrationen variiert, ohne daß es jemals gelungen wäre, signifikante Änderungen der Enzymaktivität zu beobachten. Zur Kontrolle wurden zwischendurch bereits ausgiebig auf ihre HDC-Aktivität geprüfte Mastocytome (P 815 und Furth-Tumor) untersucht. Dabei konnte in Bestätigung der Befunde anderer Autoren (80) die Zuverlässigkeit der Methode und der Versuchsbedingungen unter Beweis gestellt werden.

IV. Diskussion der beiden verwendeten Methoden

Nachdem in den am Anfang genannten Kontroversen (56, 103) immer wieder behauptet worden war, daß die "induzierbare" HDC nur mit Isotopenmethoden nachweisbar sei und die Ergebnisse von SCHAYER gut fundiert erschienen, entschlossen wir uns, zur endgültigen Klärung der Frage auch noch die von SCHAYER (95) angegebene Isotopendilutionsmethode anzuwenden.

Ein direkter Vergleich der beiden Methoden ist nur für die Normalwerte möglich, da wir keines der eben beschriebenen Experimente genau wiederholten. Die radioaktive Methode bietet aber sicher Vorteile:

1. ist die Methode empfindlicher. Während nämlich die fluorometrisch gemessene endogene Histaminbildung bzw. die mit sog. "physiologischen" Substratkonzentrationen (20 bzw. 35 µg/ml Inkubat) gewonnenen Ergebnisse bei unseren Versuchsbedingungen fast alle in

die Nähe der Fehlergrenze (<0,2 ug/g Gewebe nicht mehr verwertbar) gerieten, wurden bei allen kommenden Versuchen mit einer Substratkonzentration von nur 1,25 µg ^{14}C-markiertem Histidin/ml Inkubat eindeutige Unterschiede gesehen, womit die Möglichkeiten der Methode noch nicht einmal ausgeschöpft sind. Die hohen Substratkonzentrationen, die bei den im vorigen Kapitel beschriebenen Versuchen verwendet wurden und welche bei anderen Formen der HDC gute Ergebnisse liefern, könnten bei der langen Inkubationszeit beim untersuchten Enzym bereits zu einer Substrateigenhemmung oder Komplexbildung zwischen Coenzym und Substrat geführt haben (111),

2. kann das im Gewebe praeformiert vorhandene Histamin (u.a. Mastzellhistamin) als nicht radioaktiv völlig vernachlässigt werden,

3. eine rasche Ring-Methylierung des gebildeten Histamin ist bei der radioaktiven Methode bedeutungslos, da das Methylhistamin im Gegensatz zur fluorometrischen Methode miterfaßt wird.

UNTERSUCHUNGEN MIT DER ISOTOPENDILUTIONSMETHODE

1. Verhalten der Histidindecarboxylaseaktivität der Rattenlunge nach Endotoxingabe und die Beeinflussung der Enzymaktivität durch Glucocorticoidverabreichung.
2. Durchführung derselben Versuche bei der Maus.
3. Untersuchung der Enzymaktivität in der Rattenleber und der -milz nach Endotoxingabe.
4. Experimente über die Beeinflussung der sog. induzierbaren HDC durch Applikation von somatotropem Hormon und von Adrenalin.
5. Mit Hilfe von Actinomycin C und Cycloheximid wurde die Frage geprüft, ob es sich bei den nach Endotoxingabe u.a. gefundenen Aktivitätserhöhungen um eine echte Enzyminduktion handelt.
6. Prüfung der HDC-Aktivität während der akuten Entzündung an der Rattenpfote und Prüfung des Einflusses der Glucocorticoide.
7. Untersuchung des Verhaltens der sog. induzierbaren HDC nach Teilhepatektomie und nach Röntgenbestrahlung.

I. Material und Methode

1. Versuchsbedingungen: Es wurden weibliche Sprague-Dawley-Ratten von 200 - 250 g Gewicht und LAF_1 - Mäuse beiderlei Geschlechts von etwa 20 - 30 g Gewicht, die in einem klimatisierten Raum gehalten wurden, verwendet. Die Tiere erhielten 8 mg (Ratten) bzw. 10 - 30 mg (Mäuse) Coli-Endotoxin (E. coli O 111:B_4, Lipopolysaccharid W, Difco Laboratories Detroit bzw. E. coli O 111-Endotoxin von Dr. Metz, Max v. Pettenkofer-Institut der Universität München) pro kg Körpergewicht intraperitoneal injiziert. Die Tiere wurden in der Regel 6 Stunden nach der Injektion getötet, die Organe möglichst steril entnommen und

eisgekühlt. Sie wurden schlachtfrisch im Verhältnis 1:21 mit m/15 Phosphatpuffer, pH 7,2, homogenisiert, nachdem in Vorversuchen das pH-Optimum des Enzyms für die Rattenlunge bei Prüfung von pH 6,0 - 8,0 bei pH 7,0 - 7,2 gefunden wurde. Als Enzymquelle diente der Überstand nach Zentrifugierung bei etwa 100 000 g für 30 Minuten. Bereits vor der Zentrifugierung wurden zur Hemmung des Bakterienwachstums 50 µg Tetracyclin (Bayer, Leverkusen) pro ml Inkubat zugesetzt. Frühere Testversuche haben gezeigt, daß durch den Tetracyclinzusatz keine Hemmung des Enzyms eintritt. Die Ansätze enthielten nach Feststellung der für unsere Verhältnisse optimalen Konzentration eine $1,5 \times 10^{-5}$m Endkonzentration von Pyridoxalphosphat als Coenzym, ferner zur Hemmung der Aminooxydasen Aminoguanidin in 3×10^{-4}m Endkonzentration. In Testversuchen ergab sich, daß der Zusatz von Aminoguanidin die meßbare Histaminbildung nicht zu steigern vermag. Andererseits trat auch keine Hemmung der Histidindecarboxylase auf. Bei den Schock- und Entzündungsversuchen sowie den zugehörigen Kontrollversuchen wurde die Substanz doch zugegeben, um eine eventuelle Aktivierung der Aminooxydasen während der untersuchten pathologischen Zustände auszuschalten (30). Ferner wurden 1,25 µg Ring-2-^{14}C-L-Histidin (spezifische Aktivität 41,5 mc/mM, The Radiochemical Centre, Amersham, England) pro ml Inkubat als Substrat zugesetzt. Das Endvolumen der Ansätze betrug 4,05 ml. Es wurde in Stickstoffatmosphäre bei 37°C. inkubiert. Die Dreifachansätze wurden in Testversuchen nach 30, 60 und 180 Minuten entnommen, wobei sich eine kontinuierliche, weitgehend lineare Zunahme der Histaminbildung ergab. Die Leeransätze wurden sofort nach Zugabe des Substrates mit 2 ml 2n Perchlorsäure inaktiviert, die Hauptansätze wurden in der Regel 3 Stunden bei 37°C. inkubiert.

Die Glucocorticoide wurden 2 Tage vor der Auslösung des Schocks als Depot-Cortison-Präparat (Scheroson, Schering AG, Berlin) und am Tag der Endotoxinverabreichung als leicht wasserlösliche Prednisolonpräparate (Decortilen solubile, Merck, Darmstadt oder Soludecortin H, Merck,

Darmstadt) in einer Dosis von 30 - 40 mg/kg Körpergewicht bei den Mäusen intramuskulär verabreicht.

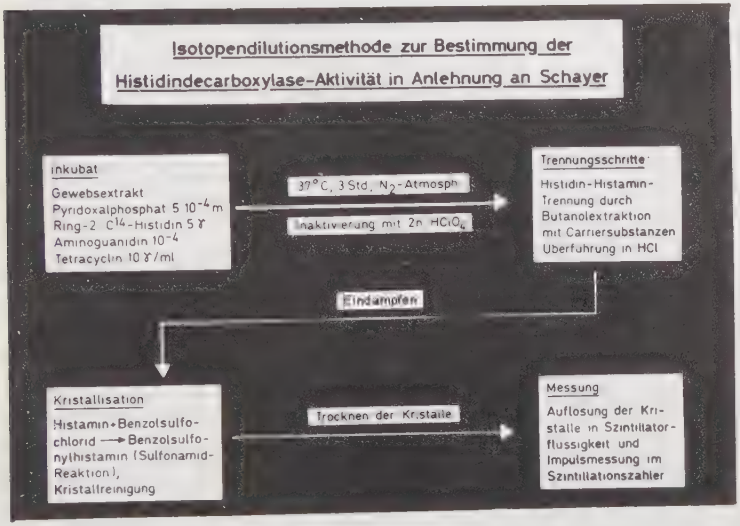
Vom somatotropen Hormon (STH) (Merck, Sharp und Dohme, Rahway, New Jersey) wurden an drei aufeinanderfolgenden Tagen 0,5 mg in wässeriger Lösung intramuskulär verabreicht, am dritten Tag zusammen mit dem Endotoxin.

Das Adrenalin (Suprarenin, Hoechst, Frankfurt/M.) wurde in Dosen von 1 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal dreimal nach 0, nach 2 und nach 4 Stunden injiziert. Nach 6 Stunden wurden die Tiere getötet.

Aktinomycin C (Sanamycin, Bayer, Leverkusen) wurde den Mäusen in Dosen von 500 µg/kg Körpergewicht, Cycloheximid (Actidion, Upjohn, Kalamazoo, Michigan) in Dosen von 25 - 35 µg/kg Körpergewicht intraperitoneal drei Tage lang hintereinander gegeben. Die Kontrollen erhielten jeweils die Lösungsmittel allein.

2. Histaminbestimmung mit der modifizierten Isotopendilutionsmethode nach SCHAYER (95):

Abb. 1:



Im Anschluß an die Inkubation wurde die Enzymreaktion mit 1 ml einer wässerigen Lösung, die 66,4 mg Histamindihydrochlorid und 50,0 mg L-Histidinmonochlorid pro ml als Schleppsubstanzen enthielt, gestoppt und mit 2 ml 2n Perchlorsäure enteiweißt. Das denaturierte Eiweiß wurde abfiltriert und mit 13 ml 0,2n Perchlorsäure nachgespült. Zum klaren Filtrat wurden 10 ml gesättigte Natriumsulfatlösung, 1 ml 10n NaOH und 50 ml Butanol (Merck, Darmstadt) gegeben. Die Mischung wurde 15 Minuten lang mechanisch geschüttelt, dann bei 7000 U/min. 5 Minuten lang zentrifugiert und die klare Butanolphase abgesaugt. Zur weiteren Reinigung wurde das Butanol mit 20 ml einer wässerigen, alkalischen, gesättigten Natriumsulfatlösung, die 1 mg L-Histidinmonochlorid pro ml enthielt, gewaschen und zentrifugiert. Die Butanolphase wurde daraufhin 15 Minuten

lang mit 15 ml 1n Salzsäure mechanisch geschüttelt und die Salzsäure, die das Histamin enthielt, aus dem Scheidetrichter in Erlenmeyerkolben mit Schliffstopfen abgelassen. Nunmehr wurde die Salzsäure im Rotationsverdampfer abgedampft, der Rückstand wieder in wenigen ml Aqua dest. gelöst und nach nochmaligem Eindampfen wurden in einem Exsiccator, der Kaliumhydroxydplätzchen enthielt, die letzten Säurereste entfernt. Der Rückstand (Histamindihydrochlorid) wurde in 2 ml Aqua dest. gelöst, neutrales bis leicht alkalisches pH eingestellt und 3 ml einer Lösung von Benzolsulfochlorid (Fluka, Buchs, Schweiz) in Dioxan (60 mg Benzolsulfochlorid pro ml Dioxan) sowie 1,5 g Natriumbicarbonat zugegeben. Die Mischung wurde bei Zimmertemperatur 30 Minuten lang mechanisch geschüttelt. Dann wurden ungefähr 20 ml Aqua bidest. zugegeben und die Mischung mehrere Stunden lang im Kühlschrank aufbewahrt, wo sich die Benzolsulfonylhistamin (BSH)-Kristalle bildeten. Die Kristalle wurden in einem Rundfilter (Schleicher & Schüll, Nr. 597) gesammelt und mit 25%igem Aethanolwasser gewaschen; danach wurde eine Spatelspitze Aktivkohle zugegeben, die Kristalle in 4 ml Aceton nochmals gelöst und mit Wasser rekristallisiert, erneut abfiltriert und im Filter getrocknet. Die getrockneten Kristalle wurden in ^{40}K-freien Gläsern (Packard Instruments, Frankfurt/M.) gewogen und in 12 ml Szintillatorflüssigkeit nach BRAY (45 g Naphthalin, 3 g PPO, 150 mg POPOP (beides Packard Instruments, Frankfurt/M.), 15 ml Aethylenglycol (Merck- Darmstadt), 75 ml abs. Methanol (Merck), Dioxan (Merck) ad 750 ml) gelöst. Die Impulse wurden im Packard Tri-Carb-Flüssigkeitsszintillationszähler gemessen.

II. Ergebnisse

Alle im folgenden angeführten Werte stellen Mittelwerte der Ergebnisse dreier parallel laufender, gut übereinstimmender Versuchsansätze dar. Die Resultate werden alle in Impulsen/Min. pro 100 mg Benzolsulfonylhistamin (IpM/100 mg BSH) angegeben. Umrechnung in µg/g Gewebe s.S. 59 .

1, Normale HDC-Aktivität in der Rattenlunge und Steigerung nach Endotoxingabe.

Bereits bei den Kontrolltieren ergab sich eine stärkere Schwankung der nachweisbaren Enzymaktivität von Tier zu Tier. Bei 2 Tieren war keine Aktivität nachweisbar; diese Versuche wurden bei der Signifikanzbestimmung nicht berücksichtigt, obwohl sie das Ergebnis verbessert hätten. Bei einem Tier haben die drei Parallelwerte stark geschwankt, auch dieser Wert wurde bei der Signifikanzbestimmung nicht verwendet. Bei den Kontrolltieren wurde die normale Histaminbildung zwischen 900 und 4700 IpM/100 mg BSH gefunden, wobei der Höchstwert mit 4700 IpM/100 mg BSH weit außerhalb der übrigen Werte lag. Die Werte der endotoxinbehandelten Tiere wurden bei 1400 bis 8000 IpM/100 mg BSH festgestellt. Der Durchschnitt der normalen Kontrolltiere lag bei 1800 IpM/100 mg BSH, der der endotoxinbehandelten Tiere bei 4000 IpM/100 mg BSH. Bei der Signifikanzberechnung nach STUDENT ergab sich ein p-Wert von etwa 0,025 (s.Tab.10).

2, Histidindecarboxylaseaktivität im Serum normaler und endotoxinbehandelter Ratten.

Pro Versuch wurden 0,2 ml Serum eingesetzt, welches mit Phosphatpuffer auf 3 ml aufgefüllt wurde. Sowohl bei den Normaltieren wie bei den endotoxinbehandelten Tieren war keine Aktivität nachweisbar. Die HDC-Aktivität steigt also im Serum nicht an, so daß die Bildung des Enzyms in einem bestimmten - vorläufig unbekannten - Organ und seine Einschwemmung in andere Organe auf dem Blutweg keine Rolle spielen dürfte.

SCHAYER hatte im Mäuseblut ebenfalls keine HDC-Aktivität nachweisen können (86).

3. Beeinflussung der nach Endotoxingabe gesteigerten HDC-Aktivität der Rattenlunge durch Glucocorticoide.
Wegen der bekannten bessernden Wirkung von Nebennierenrindensteroiden im Endotoxinschock und der mitgeteilten Aktivitätssteigerung der spezifischen HDC des Magens durch Glucocorticoide (82, 103), haben wir vor und gleichzeitig mit der Endotoxingabe Glucocorticoide in sehr hohen Dosen verabreicht und konnten dabei erstmals eine Hemmung der Enzymaktivität nachweisen (s. Tab. 10). Bereits von SCHAYER war ein möglicher Zusammenhang zwischen Glucocorticoidwirkung und Histaminbildung auch im Bereich der Endstrombahn diskutiert worden (92, 93), wobei er allerdings nur auf die direkt gefäßverengende Wirkung des Cortison hinwies (2, 27, 29, 120).

Die erhaltenen HDC-Werte sind sogar niedriger als die bei normalen Tieren. Dieser Befund beweist auch, daß die Steigerung der Enzymaktivität nicht durch Bakterienenzyme bedingt war, was wir trotz Zusatz von Tetracyclin und bestmöglichem sterilen Arbeiten zunächst befürchtet hatten.

Tab. 10:

Erhöhung der Histidindecarboxylaseaktivität der Rattenlunge nach Endotoxingabe und Hemmung dieses Effektes durch Glucocorticoide

Kontrollen	Verabreichung von Endotoxin	Verabreichung von Endotoxin und Glucocorticoid
900	3900	500
0	8000	0
1100	3200	0
1500	1400	1300
0	3800	0
1400	2500	0
900	5500	
2000	3700	
4700	(3000-5000)	
Mittelwerte: 1388	4000	300

Ergebnisse in Impulse/Min./100mg BSH

Die Hemmung durch Glucocorticoide ist nicht kompetitiv. Nach Endotoxinverabreichung hemmte die Gabe eines Glucocorticoids (Decortilen solubile) bei Ratten erst in 5×10^{-3}m Endkonzentration in vitro zu 30 - 50%, diese Werte waren jedoch im Gewebe nicht annähernd erreicht worden. Die Impulszahlen bei den Ansätzen mit Glucocorticoid im Inkubat (5×10^{-3}m) betrugen 1800, 2100 und 5500, während in den jeweiligen Parallelansätzen mit dem Enzymextrakt vom gleichen Tier ohne Glucocorticoidzusatz 3950, 4500 und 7500 IpM/100 mg BSH gemessen wurden.

4. Beeinflussung der HDC-Aktivität der Rattenlunge nach Endotoxingabe durch somatotropes Hormon (STH).

Die im vorigen Abschnitt beschriebene hormonelle Beeinflussung der HDC veranlaßte die Frage, ob auch andere Hormone die HDC-Aktivität zu beeinflussen vermögen. Wir applizierten daher vor und nach Endotoxingabe somatotropes Hormon, das einerseits prophlogistisch (44) wirkt und das damit bei der Entzündung ein Antagonist der Nebennierenrindensteroide ist, das andererseits die RNS-Synthese stimuliert (17), was im Hinblick auf den von SCHAYER (85, 87) ohne Beweis geprägten Ausdruck "induzierbare" HDC bedeutsam erschien. Es wurden 4 Versuche durchgeführt, von denen 3 für eine weitere Aktivitätssteigerung durch STH sprechen, während sie bei einem Versuch nicht nachweisbar war. Die erhaltenen Impulszahlen waren: 8600, 10 800, 7100, 4800, Mittelwert 7825 ($p<0,05$). Vergleichswerte s.Tab. 10. Inzwischen haben GEISSL und SCHAUER diese STH-Wirkung erneut bestätigt (persönliche Mitteilung).

5. Die HDC-Aktivität in der Mäuselunge im Endotoxinschock und ihre Beeinflussung durch Glucocorticoide.

Zur Prüfung von Speziesunterschieden wurde die Maus untersucht. Hier kann man von einem Endotoxinschock sprechen, da bei der angewendeten Dosis fast alle Testtiere (80 - 90%) nach 18 - 30 Stunden starben. Die Steigerung der HDC-Aktivität ist noch viel stärker ausgeprägt (s.Tab. 11), $p<0,01$. Die fehlende HDC-Aktivität

bei den Kontrolltieren bedeutet sicher kein Fehlen des Enzyms, sondern eine Interferenz mit anderen, sei es - vor allem - histidin-, sei es histaminabbauenden Enzymen, deren Ausschaltung in den vorliegenden Versuchen nicht notwendig war, da keine Aussage über die HDC-Aktivität bei unbehandelten Tieren gemacht werden sollte. Unter Umständen ist die HDC-Aktivität auch so gering, daß sie gegenüber dem Leerwert, der das trotz Butanol-Extraktion mitgeschleppte ^{14}C-Histidin und die Verunreinigung (116) des Histidin-Firmenpräparates durch ^{14}C-Histamin angibt, nicht in Erscheinung tritt. Im gegebenen Fall müßte man das Präparat durch Chromatographie säubern, die Extraktion durch Vorschalten eines Ionenaustauschers zur Histidin-Histamintrennung und häufigeres Auswaschen des Butanols verbessern.

Die Hemmung der Enzymaktivität durch Glucocorticoide war nicht vollständig wie bei der Ratte, sie betrug aber immerhin 75% (s.Tab. 11).

Tab. 11:

Die Histidindecarboxylaseaktivität in der Mäuselunge im Endotoxinschock. Änderung des Effektes nach Glucocorticoidbehandlung

	Kontrollen	Verabreichung von Endotoxin	Verabreichung von Endotoxin und Glucocorticoid
	0	15500	3700
	0	18300	3000
	0	17000	4680
	0	17500	3350
	—	18580	7100
Mittelwerte:	0	17378	4365

Impulse/Min/100mg BSH

Bei den Mäusen wurde wiederum die lebensrettende Wirkung der Glucocorticoide nachgewiesen. Von 10 Testtieren, die nur Endotoxin erhielten, überlebte ein einziges, 10 endotoxinbehandelte Tiere, die der üblichen Glucocortocoidapplikation unterzogen worden waren, blieben alle am Leben.

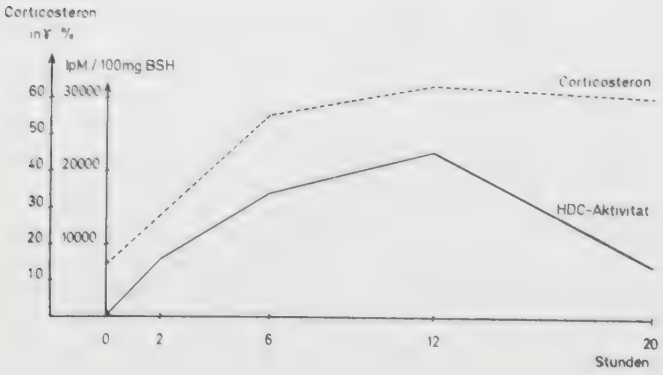
6. Zeitliches Verhalten der HDC-Aktivität in der Mäuselunge und der Plasmacorticosteronkonzentration im Endotoxinschock. Nachdem wir ursprünglich angenommen hatten, daß der Tod der Mäuse auf eine Erschöpfung der Glucocorticoidproduktion der Nebennierenrinde zurückzuführen sei, haben wir die Corticosteronkonzentration im Blutplasma zu verschiedenen Zeitpunkten nach Endotoxingabe untersucht.* Dabei fand sich ein deutlicher Anstieg in allen Schockphasen gegenüber den Werten unbehandelter Tiere. Dieser Anstieg der Glucocorticoidkonzentration im Blut bei Stresszuständen ist bekannt (16, 66). Die Werte waren auch noch nach 20 Stunden hoch, als die ersten Kontrolltiere bereits gestorben waren, was gegen die schnelle Erschöpfung der Nebennierenrinde spricht (Abb. 2). Bestimmt wurde das Plasmacorticosteron, das bei der Maus wie bei der Ratte und beim Kaninchen der Hauptanteil der freien Glucocorticoide ausmacht und als guter Indikator für die insgesamt vorhandenen Glucocorticoide dienen kann (16). Jeder Wert ist aus dem gesammelten Blut von 5 Mäusen gewonnen, stellt also einen Mittelwert dar.

Bei der Prüfung des zeitlichen Verhaltens der Enzymaktivität fand sich ein gut meßbarer Anstieg schon nach 2 Stunden, ein Maximum nach 6 - 12 Stunden, während die Enzymaktivität nach 20 Stunden bereits wieder abgefallen war (s. Abb. 2).

*Für die Durchführung der Bestimmungen danke ich Herrn Privatdozent Dr. Scriba, II. Med. Klinik der Universität München.

Abb. 1:

Zeitlicher Ablauf der Enzyminduktion und Verhalten der Corticosteronkonzentration im Blutplasma



7. Das Verhalten der HDC-Aktivität in der Rattenleber und Rattenmilz nach Endotoxingabe.

Will man der sog. induzierbaren HDC allgemeine Bedeutung bei der autonomen Regulierung der Mikrozirkulation zuweisen, so muß man sie in vielen Organen nachweisen können. So liegt die Hauptarbeit SCHAYER's in seinen breit angelegten Untersuchungen vieler Organe mehrerer Säugetierspezies bei verschiedenen Stresszuständen (84, 86, 91).

Bei unbehandelten Ratten wurde in der Leber keine Histidindecarboxylierung gefunden. Die Hauptwerte waren sogar zum Teil bedeutend niedriger als die Leerwerte, da in diesem Organ die Transaminierung eine große Rolle spielt, und somit im Hauptansatz viel von dem in Spuren bei der Trennung mitgeschleppten Histidin, welches mit seinen Impulsen die Höhe des Leerwertes bestimmt, abgebaut ist. Demgegenüber kann die Histaminbildung zu gering sein, als daß sie in Erscheinung tritt.

Auf verschiedene Weise wurde versucht, durch Änderung der Versuchsanordnung eine Histidindecarboxylierung in der Leber normaler Ratten nachzuweisen. Eine Hemmung der Transaminierung durch Pyridoxin - 5' - Phosphat ist nicht möglich, da es sich hierbei um eine kompetitive Hemmung des auch bei der Decarboxylierung wirksamen Coenzyms handelt. Die Hemmung der Methylase als histaminabbauendes Enzym durch Chlorpromazin in vitro brachte keinen wesentlichen Erfolg; dieses Enzym ist wohl auch nur bei der Maus von größerer Bedeutung, wo es 80% des Histaminabbaues bewirkt. Außerdem ist das Enzym fast ausschließlich partikelgebunden und erscheint bei unseren Bedingungen nicht im Ansatz. Probeweise einstündige Vorinkubation mit 1,24 mg L-Histidinbase pro ml Ansatz war ebenfalls ohne Erfolg.

Nach Endotoxingabe jedoch war in der Leber eine Decarboxylierung nachweisbar (s.Tab. 12).

Tab. 12: Die HDC-Aktivität in der Leber unbehandelter und endotoxinbehandelter Ratten. (Wenn der Hauptwert niedriger war als der zugehörige Leerwert, steht in der Tabelle vor dem Wert ein Minuszeichen).

Kontrolltiere	Endotoxininjektion*
- 3000 (1:21)**	+ 1000 (1:21)
- 1800 (")	+ 2750 (")
- 2400 (")	+ 1600 (")
- 2300 (")	+ 200 (")
- 400 (1:11)	
- 300 (")	
- 600 (")	
- 200 (")	
Vorinkubation mit L-Histidinbase	
- 2000 (1:21)	
- 300 (1:11)	
- 400 (")	
Mittelwerte:	
- 2300 (1:21)	+ 1387 (1:21)
- 366 (1:11)	

*Ergebnisse in IpM/100 mg BSH
**Die in ( ) angegebenen Zahlen geben die Verdünnung der verwendeten Homogenate an.

Im Zusammenhang mit diesen Ergebnissen ist interessant, daß in der Leber der fetalen Ratte eine sehr hohe HDC-Aktivität besonders zu dem Zeitpunkt vorhanden ist, zu dem das Organ zum überwiegenden Teil aus blutbildendem Kapillarmesenchym besteht (80).

In der Rattenmilz konnten wir unter den üblichen Versuchsbedingungen nach Endotoxinverabreichung für uns überraschenderweise keine Aktivitätssteigerung der HDC nachweisen. Im Durchschnitt sind die Werte der Kontrolltiere sogar um ein Geringes höher. Um eine signifikante Repression der HDC handelt es sich aber dabei nicht. Die Resultate bei Normaltie-

ren waren: 3600, 4500, 7500, 4900, Mittelwert: 5125; bei endotoxinbehandelten Tieren: 2800, 3100, 6800, 4600, Mittelwert: 4325 ($p>0,05$). Dieses Ergebnis stimmt mit der von SCHAYER gefundenen Aktivitätssteigerung nicht überein (84).

8. Verhalten der HDC bei unbehandelten Ratten nach Adrenalingabe.

Daß im Endotoxinschock frühzeitig Katecholamine freigesetzt werden, wurde mehrmals gezeigt (69, 76, 123). Dies elgte die Vermutung nahe, daß die Katecholamine eventuell der initiale Stimulus für den Anstieg der HDC-Aktivität sein könnten). SCHAYER hatte bereits Katecholamine injiziert, ihre Wirkung als unspezifischen Stress angesehen, der auch zur HDC-Aktivierung führen müßte. Ein entsprechender Befund wurde tatsächlich mitgeteilt (94). Wir konnten eine Steigerung der HDC-Aktivität bei vier durchgeführten Versuchen an der Rattenlunge nicht beobachten. Dieses Problem wäre allerdings unter verschiedenen Versuchsbedingungen noch eingehender zu prüfen, wobei vor allem Noradrenalin, dem die gefäßverengende Wirkung zukommt, zur Anwendung kommen müßte.

Ergebnisse in IpM/100 mg BSH: 3400, 1500, 500, 350, Mittelwert: 1437. Kontrollwerte unbehandelter Ratten siehe unter 1.

9. Verhalten der HDC der Mäuselunge im Endotoxinschock nach Gabe von Actinomycin C und Cycloheximid.

Eine entscheidende Frage ist die nach dem Wesen der Aktivitätssteigerung des Enzyms. Handelt es sich wirklich um eine Vermehrung des Enzymproteins? Um diese Frage abzuklären, haben wir mit dem Endotoxin Substanzen verabreicht, die an verschiedenen Stellen in die Nucleinsäure- bzw. Proteinsynthese eingreifen. Wir verwendeten Actinomycin C, welches am Übergang chromosomaler zu ribosomaler RNS blockierend wirkt und Cycloheximid, das die an den Ribosomen ablaufende Proteinsynthese hemmt (4, 23, 41). Die Untersuchungen wurden am Lungengewebe von Mäusen durchgeführt.

Während die Impulszahlen nach Cycloheximidgabe ungefähr gleich blieben, zum Teil leicht erniedrigt waren ($p > 0,05$), stiegen sie unter Actinomycin C-Vorbehandlung signifikant an ($p < 0,05$). Dieser Effekt kann vorläufig nicht gedeutet werden.

Nachdem also die echte Induzierbarkeit des Enzyms zunächst nicht bewiesen werden konnte, soll der von SCHAYER bereits 1962 geprägte Ausdruck "induzierbare HDC" (82) vorläufig in die Bezeichnung "sog. induzierbare HDC" umgewandelt werden.

Tab. 13: Beeinflussung der Histidindecarboxylaseaktivität der Mäuselunge im Endotoxinschock durch Actinomycin C und Cycloheximid.

Schocktiere	Schocktiere mit Actinomycinverabreichung*	Schocktiere mit Cycloheximidverabreichung
22 500*	40 000	15 000*
20 000*	15 000	14 500*
15 500**	32 000	17 500**
18 300**	35 000	16 000**
17 000**		17 000**
17 500**		
18 580**		
	Mittelwerte:	
18 483	30 500	15 833

*Coli-Endotoxin (Difco Lab.)
**Coli-Endotoxin (Hygiene-Institut d. Universität München)

Anhang:

Es wird über vorläufige Untersuchungen auf Gebieten berichtet, die noch genauer bearbeitet werden sollen. Es handelt sich um die Änderung der HDC-Aktivität bei Röntgenbestrahlung, welche als Stress aufzufassen ist, beim Regenerationsprozess nach Teilhepatektomie und bei der akuten Entzündung.

Bei der ersten Fragestellung wurde die Rattenlunge untersucht, bei der zweiten die Leber, die akute Entzündung wurde an der Rattenpfote durch 1:10 verdünntes Hühnereiweiß hervorgerufen. Keine der drei Untersuchungsreihen erbrachte bei der angewendeten Versuchsanordnung signifikante Aktivitätsänderungen der HDC.

1. Entzündung:
Eiereiweiß von Hühnern wurde 1:10 verdünnt, dann wurden je 0,1 ccm in beide Hinterpfoten injiziert. Nach 2,5 bis 3,5 Stunden wurden die Tiere getötet, die Cutis und die Subcutis der Pfoten wurde ohne Muskulatur abpräpariert. Das zu diesem Zeitpunkt schon starke Pfotenoedem hatte ungefähr zu einer Verdoppelung des Gewichtes geführt. Bei der Verdünnung 1:21 gingen wir nicht vom aktuellen Gewicht, sondern vom Durchschnittsgewicht normaler Pfoten aus. Die Kontrollen erhielten Aqua dest. in die Pfote injiziert. Ein Oedem bildete sich hierbei nicht aus. Intramuskulär applizierte Glucocorticoide konnten die Oedembildung so gut wie vollständig verhindern, die HDC beeinflußten sie nicht. Werte bei Normaltieren: 0, 0, 1200, Mittelwert: 480; Werte bei der akuten Entzündung: 0, 0, 700, 200, 500, Mittelwert: 280; Werte bei der akuten Entzündung und Vorbehandlung mit Glucocorticoiden: 0, 0, 800, 1500, 0, Mittelwert: 460.

2. Teilhepatektomie:
Zwei Drittel der Leber von Ratten wurden reseziert, nach 24 Stunden wurde die bereits stark verfettete Restleber entnommen. Die Verdünnung in Puffer war 1:11. Bis auf einen waren alle Hauptwerte niedriger als die Leerwerte (s.a. 7.). Normalwerte: -400, -500, -700, -400; teilhepatektomierte Tiere: -600, -1600, +700, -500, -400.

3. Röntgenbestrahlung:
Es wurden weibliche Wistar-Ratten von etwa 150 g Gewicht verwendet. 25-minütige Ganzkörperbestrahlung, radiäre Anordnung der Tiere, 75 cm Fokus-Bodenabstand, 300 KV, 10 mA, 24 r/min., 1,0 mm Al, 0,9 mm Cu, Dosismeterspitze 15 cm vom Zentrum ent-

fernt. Es liegen lediglich Doppelwerte über verschiedene Zeiträume nach der Bestrahlung vor. Die Werte sprechen insgesamt eher für eine Repression der Enzymaktivität.

Impulse bei Untersuchungen am Lungengewebe von unbehandelten Wistar-Ratten: 600, 700; Impulse am Lungengewebe von bestrahlten Wistar-Ratten: Nach 4 Std.: 0; 24 Std.: 0; 24 Std.: 0; 48 Std.: 900, 96 Std.: 0.

14. ZUSAMMENFASSUNG

1. Im Endotoxinschock wurde eine signifikante Aktivitätserhöhung des von SCHAYER als "induzierbare" Histidindecarboxylase bezeichneten Enzyms in der Rattenlunge und -leber sowie in der Mäuselunge in zahlreichen Untersuchungen gefunden.
2. Erstmals wurde eine starke Abnahme der nach Endotoxingabe erhöhten Enzymaktivität nach mehrtägiger Glucocorticoidvorbehandlung nachgewiesen. Dies ist ein erster Hinweis auf die bisher unklare Wirkungsweise der Glucocorticoide im Schock.
3. Die Zeitabhängigkeit der adaptativen Histaminbildung im Endotoxinschock und die Schwankungen der Glucocorticoidkonzentration im Blutplasma von Mäusen wurde untersucht. Es zeigte sich, daß zum Zeitpunkt des Todes der Tiere die HDC-Aktivität bereits wieder abnimmt, während die Glucocorticoidkonzentration im Blutplasma noch erhöht war. Man kann demnach nicht von einer Erschöpfung der Nebennierenrinde sprechen.
4. Eine weitere Steigerung der Enzymaktivität nach Endotoxingabe ließ sich durch Vorbehandlung mit somatotropem Hormon erzielen. Dies ist ein weiterer Anhaltspunkt für eine endokrine Beeinflussung des Schockgeschehens, und zwar durch eine Substanz, deren prophlogistische Wirkung bekannt, aber nicht aufgeklärt ist.
5. Adrenalin, das schon in früheren Schockphasen vermehrt im Blut gefunden wird und das die Zentralisation des Kreislaufs mitbewirkt, erhöht - allein gegeben - die HDC-Aktivität nicht und darf daher nicht als Stimulus der Enzymaktivierung gelten.
6. Actinomycin und Cycloheximid, zwei Cytostatica, die an verschiedenen Stellen hemmend in den Ablauf der Protein- und damit der Enzymsynthese eingreifen, konnten die HDC-Aktivität im Endotoxinschock nicht senken. Die Frage, ob es sich um echte Enzyminduktion handelt, muß noch offen bleiben. Das Enzym wird deshalb als "sog. induzierbare Histidindecarboxylase" bezeichnet.

7. Um die allgemeine Bedeutung des Enzyms für die Mikrozirkulation und für Proliferations- und Wachstumsvorgänge zu prüfen, haben wir die HDC-Aktivität bei der akuten Entzündung, nach Röntgenbestrahlung und beim Regenerationsprozess nach Teilhepatektomie untersucht. Eine Änderung der Enzymaktivität konnte bei unseren Versuchsbedingungen nicht nachgewiesen werden.

THEORETISCHER TEIL

A. Der Schock.

Es ist uns eine Fülle ätiologischer Faktoren des Schocks bekannt, deren Einwirkungen jeweils vorwiegend eine von drei wesentlichen pathogenetischen Veränderungen hervorrufen können: Eine Verminderung des venösen Rückstroms zum Herzen, eine Vasodilatation oder eine Herabsetzung des Herzminutenvolumens. Jeder dieser drei Mechanismen führt zu denselben Folgen, zur Verminderung des Stromzeitvolumens und zur Hypotonie, woraus eine Gewebshypoxydose resultiert. Bald nach dem Auftreten dieser Symptome kommen Kompensationsmechanismen in Gang, die geeignet sind, die Kreislaufsituation wieder zu bessern. Der Kapillardruck wird gegen den arteriellen Schenkel geringer, so daß die Strecke, über deren Bereich Flüssigkeit aus dem Intra- und Extrazellulärraum in die Gefäße einströmt, verlängert ist. Über die Vermittlung von Pressorezeptoren, die vor allem im Carotissinus und Aortenbogen lokalisiert sind, kommt es zur Entwicklung eines Sympathikotonus und damit zur Vaso- und Venokonstriktion, zur Erhöhung der Herzfrequenz, der Kontraktionskraft des Herzens und zur Verringerung des Restblutvolumens im Herzen.

Dadurch wird der venöse Rückstrom vermehrt, das Herzminutenvolumen vergrößert und der Blutdruck angehoben, wobei von der vermehrten Durchströmung lebenswichtige Organe Nutzen ziehen, während die zuführenden Gefäße und die Kapillaren anderer Organe, wie die der Haut, der Muskulatur und der Nieren, verengert werden, ein Vorgang, der als Zentralisation bezeichnet wird (9). Nur selten, wenn die schädigende Noxe gering war, reichen diese kompensatorischen Vorgänge allein aus, eine Normalisierung des Kreislaufs zu erzielen. Nach bisheriger Ansicht soll allein die Hypoxydose ein Versagen aerober Stoffwechselleistungen herbeiführen, als dessen Ausdruck die auftretende Acidose gelten kann, wobei vor

allem Milchsäure und CO_2 entstehen, die ihrerseits wieder gefäßerweiternd wirken. Das sog. "Exzesslactat", d.i. die rein anaerob gebildete Milchsäure, kann als Parameter der jeweiligen Schwere des Gewebsschadens dienen (22). Außerdem kommt eine Erythrozytenaggregation, das sog. Sludgephänomen zustande. Die Erythrozytenaggregate als nunmehr größte Blutpartikel fließen in der Gefäßmitte, was den Sauerstoffaustausch bereits erschwert, während andererseits durch die verklumpten Erythrozyten viele kleine Kapillargebiete und Venolen verlegt werden (10). Mit zunehmender Dauer des Schocks geht die Zentralisation, während deren Bestehen noch weitgehend normale Blutdruckwerte herrschen können, verloren, und es entwickelt sich eine protrahierte, progrediente Hypotension, die durch den zunehmenden Verlust der Gefäßansprechbarkeit gegenüber Katecholaminen gekennzeichnet ist. Auch therapeutische Dosen sind unwirksam. Die Gefäßpermeabilität ist im späteren Stadium bei jeder Form des Schocks erhöht (67), so daß es auch z.B. beim Endotoxinschock, der als normovolämische Schockform galt, zur Bluteindickung und zum Anstieg des Hämatokrits kommt. Während BUCHBORN den Begriff "normovolämisch" dahin ausdehnt, daß auch kein "Versacken" des Blutes in der terminalen Strombahn eintrete - wofür frühere Untersuchungen mit Injektionen radioaktiven Proteins sprachen (9) - steht nunmehr doch fest, daß sich auch schon in frühen Stadien des Endotoxinschocks nicht mobilisierbare Blutmengen in den sog. kapazitiven Venen ansammeln (61, 65).

Die Gewebshypoxydose schreitet unterdessen so weit fort, daß unter Beeinträchtigung weiterer Stoffwechselreaktionen der Gewebsschaden irreversibel wird. Selbst eine geeignete Kreislauftherapie kann nun nicht mehr helfen. Die schon früher infolge der Zentralisation auftretende Nierenfunktionsstörung mit Oligurie oder Anurie, mit Retention harnpflichtiger Substanzen, sowie der ebenfalls hypoxisch bedingte Leberschaden, der bei gleich-

zeitiger toxischer Schädigung in eine Leberdystrophie übergehen kann, komplizieren das Bild.

Die morphologischen Befunde beim Schock entsprechen häufig nicht der Schwere des klinischen Bildes. Meist betreffen sie die Spätphase. Am auffälligsten sind die sog. hyalinen Thromben, die jedoch fehlen können und daher nicht pathognomonisch sind. Sie bestehen aus homogenisierten Erythrozyten, aus autolytischen Leukozyten und aus Fibrin, was erst kürzlich mit der Antikörperfluoreszenzmethode elektronenoptisch endgültig gesichert wurde. Thrombozytenaggregationen und die Abnahme der Thrombozyten sind weiterhin in ihrem Mechanismus noch nicht voll aufgeklärte Vorgänge. Man weiß jedoch, daß es schon 15 Sekunden nach einer Endotoxininjektion zur Entwicklung von Pseudopodien an den Thrombozyten im strömenden Blut kommt, was ihre Aggregationsneigung fördert. Unspezifisch sind die Nekrosen, die üblicherweise als Folge eines Sauerstoffdefizits entstehen. Die Mitochondrien zeigen hierbei eine Schwellung und Abrundung, die Lysosomen platzen, so daß ihre Enzyme, vor allem Glucuronidase, Kathepsin und saure Phosphatase, frei werden. Diese Enzyme sind auch für die Autolyse verantwortlich (78).

B. Bakterielle Endotoxine

Endotoxine sind komplexe Phospholipid-Polysaccharide (46), die in der Zellwand gramnegativer Bakterien vorkommen (115), aber auch bei Viren, Rickettsien und einzelnen grampositiven Erregern vorhanden sein sollen (45). Die Empfindlichkeit verschiedener Tierspezies ist sehr unterschiedlich; die LD_{75} soll sich bei den Spezies Katze, Kaninchen, Hund, Meerschweinchen, Ratte, Maus wie 1:2,5:8:20:300:500 verhalten (72, 121). Diese Reihenfolge konnten wir für die beiden letztgenannten Tiere nicht bestätigen, was auch aus Untersuchungen von GÖING hervorgeht (36). Nach unseren Untersuchungen ist die Ratte das endotoxinresistenteste Tier. Die

Histaminempfindlichkeit derselben Tierspezies verhält sich in der oben angeführten Reihenfolge bei intravenöser Applikation wie 10:0,6:10:1:700:300 (63). Zu beachten ist die stärker ausgeprägte Histaminempfindlichkeit der Maus.

Die Wirkungen der Endotoxine sind vielfältig. Fieber soll durch direkte Wirkung am Zentralnervensystem oder durch aus zerstörten Leukozyten freigesetzte Pyrogene hervorgerufen werden (37, 119). Nach anfänglicher Leukopenie tritt eine nicht nerval gesteuerte Leukozytose auf (72). Die auffälligste Blutbildveränderung ist die hochgradige Thrombopenie (50%, Verbrauchskoagulopathie durch Thrombenbildung). Aus den zerstörten Thrombozyten wird 5-Hydroxytryptamin (Serotonin) freigesetzt. Die Gerinnungszeit ist nach 4 Stunden noch verkürzt. Anschließend entwickelt sich eine mehr oder weniger ausgeprägte Verbrauchskoagulopathie mit Fibrinniederschlägen in den Kapillaren verschiedener Organe, vor allem in den Glomerusschlingen (s. Abb. 3 bis 8).

Nach mehrfacher Endotoxingabe entsteht eine Toleranz, welche schon nach Wochen wieder verschwindet. Sie stellt demnach keine Immunität dar (25). Passive Übertragung dieser Toleranz mit dem Blut ist gelungen, auch nach Blockierung des reticuloendothelialen Systems (RES) bei den Empfängern (25). Als Toleranzfaktoren wurden Properdin und Nebennierenrindensteroide (26) ausgeschlossen. Auch eine Kreuztoleranz gegen Viren, grampositive Erreger und sogar gegen den traumatischen Schock (18, 35, 124) konnte erzeugt werden, das umgekehrte Phänomen war dagegen nur schwer und unzuverlässig hervorzubringen. Die Serotoninentspeicherung wurde bereits erwähnt. Außerdem liberieren Endotoxine Histamin aus Mastzellen (48). Eine Verstärkung der phagozytierenden Eigenschaften des reticulohistiozytären System (RHS) durch Histamin ist beschrieben (51). Ferner weiß man, daß Endotoxine in den Zellen des RHS phagozytiert werden. Blockierung des RHS durch kolloidale Substanzen steigert dagegen die Endotoxinempfind-

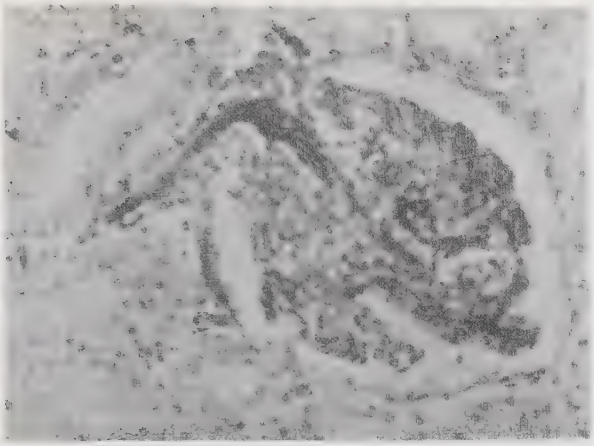


Abb. 3:
Thrombotischer Gefäßverschluß des Vas afferens und der Glomerulumschlingen im Endotoxinschock nach septischem Abort. 40-jährige Frau; bakteriologisch: Colisepsis; Weigert'sche Fibrinfärbung; Vergrößerung 350-fach.

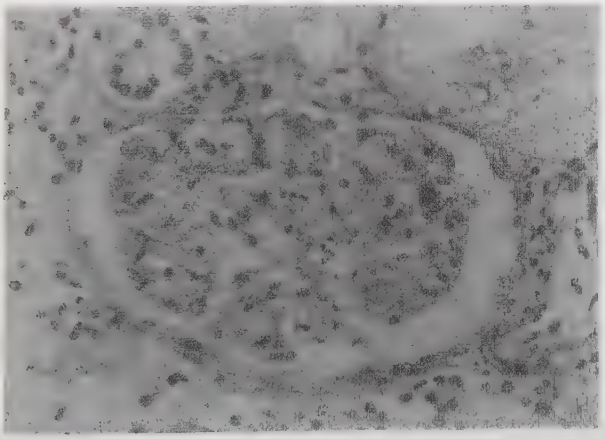


Abb. 4:
Ausguß der Glomerulumschlingen durch Mikrothromben. Gleicher Fall wie bei Abb. 3; Lendrum-Färbung; Vergrößerung 480-fach.

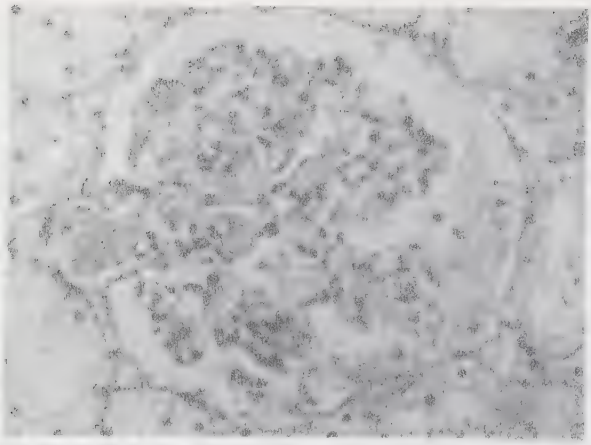


Abb. 5:
Thrombotischer Gefäßverschluß des Vas afferens und der Glomerulumschlingen. Starker Eiweißaustritt in den Bowman'schen Kapselraum. Gleicher Fall wie bei Abb. 3; Lendrum-Färbung; Vergrößerung 480-fach.

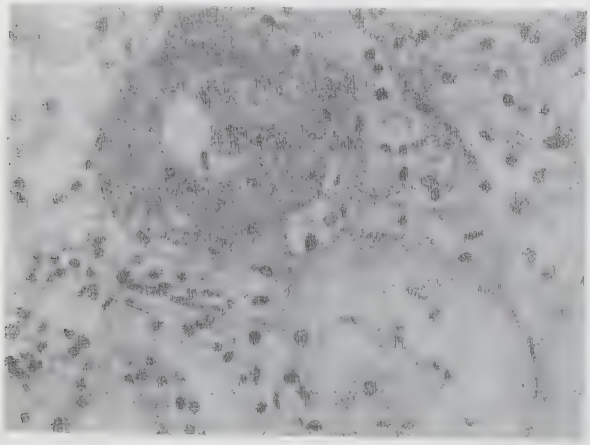


Abb. 6:
Starke Insudation von PAS-positivem Material in die Gefäßwand mit hochgradiger Lumeneinengung. Kollapsreaktion an den Tubuli. Gleicher Fall wie bei Abb. 3; Vergrößerung 480-fach.

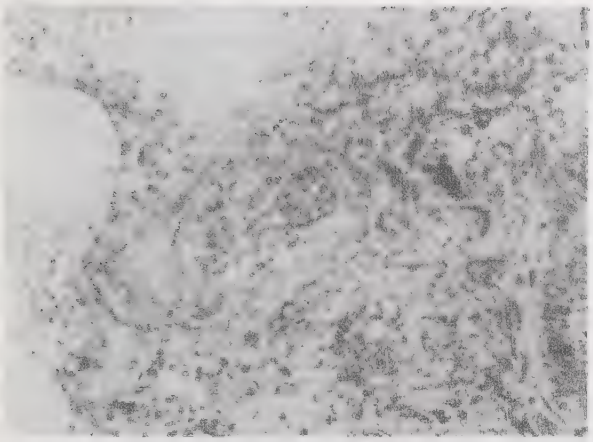


Abb. 7:
Thrombotischer Gefäßverschluß einer kleinen Lungenarterie, Mitte im Bild. H.-E.-Färbung. Gleicher Fall wie bei Abb. 3; Vergrößerung 300-fach.

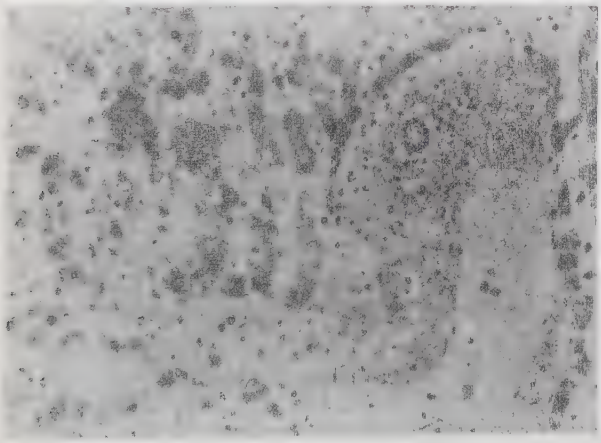


Abb. 8:
Thrombotischer Teilverschluß eines Astes der A. hepatica im Glisson'schen Feld rechts unten im Bild. Entparenchymisierung des Lebergewebes. H.-E.-Färbung. Gleicher Fall wie bei Abb. 3; Vergrößerung 300-fach.

lichkeit um ein Vielfaches, wohl infolge der dadurch verminderten Phagozytosefähigkeit (39). Jedoch kann die Entwicklung der Endotoxintoleranz durch Blockierung des RHS nicht verhindert werden (122). Endotoxine bewirken eine Glykogenolyse in der Leber, welche durch Cortisongabe verhindert wird. Der lebensrettende Effekt der Nebennierenrindensteroide wurde daraufhin von BERRY und Mitarb. auf die Hemmung der Glykogenolyse durch Cortison zurückgeführt (5, 6).

Die bedeutendste Wirkung der Endotoxine ist ihre hämodynamische, nämlich die Auslösung des Endotoxinschocks. Dieser verläuft wie andere Schockformen (s.o.), dabei ist jedoch die besonders starke Hyperreaktivität der Gefäße gegenüber Katecholaminen im frühen Stadium bemerkenswert (123). Wie erwähnt, gehört der Endotoxinschock zu den sog. normovolämischen Schockformen, jedoch hat die Konstriktion der Arteriolen und der präkapillären Sphinkteren bei gleichzeitiger Erhöhung des Venentonus (123) eine Stauung und Stromverlangsamung im Kapillarbett zur Folge, was sich auch klinisch anhand der Erniedrigung des zentralen Venendrucks unschwer nachweisen läßt (108). Neuerdings berichtet HINSHAW (47), daß zumindest beim Endotoxinschock schon früh Plasma aus der terminalen Strombahn austritt. Das Endotoxin soll dabei unmittelbar an den Kapillaren angreifen, Veränderungen des hydrostatischen oder des kolloidosmotischen Druckes sind nach den Befunden des Autors nicht vorhanden. Zudem berichtete WEIL (106) über die günstige Wirkung von beta-adrenergischen Substanzen, welche die Venenkonstriktion fördern.

Neben dem therapeutisch auch hier bewährten Flüssigkeitsersatz (10) ist beim Endotoxinschock die Gabe von Nebennierenrindensteroiden eine wichtige, häufig lebensrettende Maßnahme. Der Mechanismus der Corticoidwirkung ist bis jetzt ungeklärt. Aus dem Experiment war bislang nur die direkte vasokonstriktorische Wirkung der Glucocorticoide, die sich als potenzierende

Wirkung auf die pressorischen Eigenschaften der Katecholamine äußert, bekannt (2, 27, 29, 120). Die erhöhte Plasmakonzentration an Glucocorticoiden bei allen Stresssituationen, die beim Menschen und einigen Tierspezies auch terminal noch vorhanden sein soll, wurde mehrfach beschrieben (71, 79). Dagegen sind nach Adrenalektomie bereits 0,00005 mg Endotoxin tödlich gegenüber der 100- bis 10 000-fachen Menge beim normalen Tier. Ausreichende Cortisonsubstitution normalisiert die Verhältnisse. Die Endotoxintoleranz kann jedoch auch bei adrenalektomierten Tieren hervorgerufen werden; man muß dann mit sehr kleinen Endotoxindosen beginnen und langsam steigern (124).

Elektronenoptische Untersuchungen beim Endotoxinschock haben ergeben, daß 3 Stunden nach der Endotoxininjektion die Endothelzellen der Gefäße ins Lumen vorragende Fußprozesse zeigen und daß intraendotheliale Vakuolen von der Größe des Endotoxinmoleküls auftreten (49).

Als sehr bemerkenswerte Sonderform der Endotoxinwirkung muß das 1924 zum ersten Male beschriebene Sanarelli-Shwartzman-Phänomen erwähnt werden (77). Nach zweimaliger intravenöser Endotoxininjektion im Abstand von 24 Stunden kommt es sehr schnell zum irreversiblen Schock mit begleitender hämorrhagischer Diathese infolge intravasaler Gerinnung, die zum excessiven Fibrinverbrauch führt (50). Morphologisches Substrat ist unter anderem die 4 - 5 Stunden nach der Zweitinjektion auftretende symmetrische Nierenrindennekrose, wie sie auch nach vorzeitiger Plazentalösung und anderen Zuständen mit Thromboplastineinschwemmung vorkommt (8, 39). Daneben finden sich in vielen Organen herdförmige Hämorrhagien.

Interessant ist hierzu, daß Corticoide das Zustandsbild verschlechtern, oft deletäre Folgen auslösen. Durch hohe Glucocorticoidgaben kann man sogar die "präparierende", d.i. die erste, Endotoxininjektion ersetzen; diese Her-

mone schaffen also eine gewisse Disposition für das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen (50) und üben damit eine der beim Endotoxinschock entgegengesetzte Funktion aus.

C. Die sogenannte induzierbare Histidindecarboxylase im Endotoxinschock.

Nach der Entdeckung des Histamin hatte diese Substanz in der Schockforschung im Rahmen der "Toxin"-Theorien, die vor allem von DALE vertreten wurden, eine führende Rolle gespielt (117). Nach vielen Mißerfolgen, diese Ansicht experimentell zu stützen, hatte DALE 1935 selbst diese Epoche abgeschlossen (15), indem er schrieb, der traumatische Schock habe sicher nichts mit vermehrter Histaminfreisetzung oder -bildung zu tun. Warum das Histamin seitdem über 20 Jahre nicht mehr mit dem Geschehen bei den protrahierten sekundären Schockformen in Verbindung gebracht wurde, hatte vor allem folgende Gründe: 1. Die durch Plasmaverluste und andere Ursachen hervorgerufenen Schockformen unterscheiden sich in vielen Punkten vom Histaminschock; 2. Der Histamingehalt des Muskels ist zu niedrig, als daß er ausreichen würde, einen Schock zu erzeugen, was die Bedeutung des Histamin beim traumatischen Schock stark zu schmälern schien; 3. Der Histamingehalt wurde im Schock weder in den einzelnen Organen erhöht - eher erniedrigt, s.S.10 - gefunden, noch steigt die Histaminkonzentration in Blut und Lymphe über längere Zeit an. Nur beim anaphylaktischen Schock und verwandten Schockformen, sowie bei schwerer Hypoxämie ließen sich zu Beginn stark erhöhte Histaminkonzentrationen im Blut nachweisen (19, 31, 70); 4. Antihistaminika sind im protrahierten Schock in den üblichen, therapeutisch erreichbaren Dosen wirkungslos.

1960 hat SCHAYER (84, 86, 89) erneut auf eine Bedeutung des Histamin im Schock hingewiesen. Die Entdeckung der vermehrten Histaminbildung bei Stressituationen ging aus dem Befund hervor, daß die Histaminbildung der Rat-

tenhaut nach Entleerung der Histaminspeicher durch Substanz 48/80 nach Tagen ansteigt und über Wochen erhöht bleibt (95). Dieser Befund führte zu der Spekulation, daß auch bei vielen Stressituationen eine derartige vermehrte Histaminbildung stattfinden könne, was sich tatsächlich bestätigen ließ. SCHAYER sprach hierbei von "induzierter" Histaminbildung. Das Enzym bezeichnete er als "induzierbare" Histidindecarboxylase (86). Danach wurde das Auftreten des Enzyms in fast allen Organen außer im Blut verschiedener Tierspezies nachgewiesen, wobei die Aktivitätserhöhung in Nerven-, Sehnen- und Knorpelgewebe kaum meßbar war (86). Daraus leitete sich der Schluß ab, daß das Enzym angesichts seiner weiten Verbreitung im Säugetierorganismus und der niedrigen Aktivität in Nerven- und Bindegewebe nur im Bereich der Gefäße lokalisiert sein könne (86). Der nächste Schritt zur Erforschung des Enzyms war seine Abgrenzung gegenüber der "induzierbaren" HDC der Mastzellen (91, 95), deren Aktivitätsanstieg nach Mastzellentgranulierung parallel zum Auftreten unreifer Mastzellen im Gewebe verläuft (91).

Wir mußten nach den Zweifeln, die an diesen Untersuchungen laut geworden waren (56, 103), zunächst die Existenz des Enzyms bestätigen. Dies gelang uns erst nach langwierigen Änderungen der Versuchsbedingungen, weil wir mit der Ratte, wie wir heute wissen, ein nur gering mit "induzierter" Histaminbildung antwortendes Tier am Anfang untersucht hatten. In diesem Zusammenhang sind zwei Tatsachen erwähnenswert: Erstens die bekannte Schockresistenz der Ratte und zweitens ihre starke Histaminresistenz. Die Verbindung geringer Histaminbildung mit starker Histamintoleranz könnte natürlich die Schockresistenz der Ratte aus dem Blickwinkel der vorliegenden Arbeit gut erklären.

Welche Bedeutung hat nun das Enzym für die Regulierung der Mikrozirkulation im Schock?

Betrachtet man den klinischen Schockverlauf, so kann man sich gut vorstellen, daß eine kontinuierlich und in zunehmender Menge gebildete Substanz, die dazu als sehr starker Vasodilatator längst bekannt ist, für das Geschehen beim protrahierten Kollaps (Schock und Kollaps werden synonym gebracht) verantwortlich ist. Die Progredienz der Hypotension, der langsame Wirkungsverlust der Katecholamine (43, 123, 124), Stase und Permeabilitätserhöhung im Kapillarbereich könnten so leicht verständlich gemacht werden (43).

Die heutigen Schocktheorien betonen, wie bereits ausgeführt, als wichtigsten Faktor die Hypoxie des Gewebes und als Folge den wachsenden Ausfall energieliefernder Stoffwechselprozesse. Auf diese Weise gehen laufend neue Zellstrukturen zu Grunde bis schließlich der Schaden irreparabel geworden ist. Für den untersuchten Endotoxinschock ergibt sich die Frage, woher die hochgradige Hypoxie, die zum Entgleisen metabolischer Vorgänge führt, rührt. Die Erythrozytenzahl ist nicht vermindert; die Hypoxie müßte also von der Strömungsverlangsamung im Kapillarbett herrühren, d.h. von der Verminderung des Stromzeitvolumens, welche zur vermehrten Sauerstoffausschöpfung des Blutes bzw. zur "relativen Anämie" im Kapillarbereich führt. Tatsächlich hat die Vitalbeobachtung gezeigt, daß nach Endotoxingabe, auch bei subletalen Dosen, sehr schnell eine Phase der Hyperreaktivität gegenüber Katecholaminen eintritt, d.h. eine bedeutend länger anhaltende Vasokonstriktion nach örtlicher Applikation der Hormone (123, 124). Die spontane Vasomotion ist dabei verstärkt. Dies kann ein direkter Endotoxineffekt sein, da nämlich, wie mehrfach gezeigt (64, 100), Endotoxine selbst vasokonstriktorisch wirken, und auf diese Weise die Katecholaminwirkung verstärkt wird, oder es handelt sich um eine Hemmung natürlicher Antagonisten, so daß die Gefäße gleichsam für Katecholamine"sensibi-

lisiert werden. Andererseits ist an eine indirekte Wirkung über die Glucocorticoide der Nebennierenrinde zu denken, die bei allen Stressituationen sehr schnell vermehrt ausgeschüttet werden, und deren direkt vasokonstriktorische Wirkung am Gefäß bei örtlicher Anwendung bereits erwähnt wurde; sie wirken so synergistisch zu den Katecholaminen. Diese periphere Vasokonstriktion mag unter Umständen ausreichen, eine ischämische Hypoxie zu erzeugen. In diesem Stadium müßte dann allerdings jeder Schock, besonders jeder Endotoxinschock, durch die Gabe von Substanzen, welche die sog. alpha-Rezeptoren blockieren, zu beheben sein, da diese das Auftreten der Hypoxie verhindern würden. Dies ist nicht generell richtig (64, 65). Es konnten zwar durch Vorbehandlung mit sog. alpha-Rezeptorenblockern viele Versuchstiere am Leben erhalten werden. Bereits bei gleichzeitiger Gabe mit dem Endotoxin sind jedoch sympatholytische Drogen weit weniger und nur in Verbindung mit Plasmasubstitution wirksam, während Corticoide allein noch hervorragend wirken (65). Außerdem haben diese Verhältnisse vorerst nur beim Hund Gültigkeit, der im Rahmen des Endotoxinschocks eine Sonderstellung einnimmt, da der Verlauf durch eine initiale, massive Histaminfreisetzung aus der Leber überlagert wird (33). Diese Befunde weisen am ehesten daraufhin, daß durch die vorhergehende alpha-Rezeptorenblockierung der Schockmechanismus nicht in Gang kommt. Sie gaben immerhin dazu Anlaß, die Katecholamine als möglichen Stimulus der erhöhten Histaminbildung zu diskutieren. Der Versuch eines biologischen Nachweises mit Adrenalin verlief allerdings vorläufig negativ (s. exp. Teil).

Im weiteren Schockverlauf scheint das Kapillarbett bei der Vitalbeobachtung nach einer Stunde wieder normal, bis etwa drei Stunden nach Endotoxingabe eine Strömungsverlangsamung in den Venolen zustande kommt; das Kaliber der Arteriolen bleibt unverändert, die präkapillären Sphinkteren zeigen einen zunehmenden Ver-

lust der Katecholaminantwort. Das von ZWEIFACH und CHAMBERS inaugurierte Kapillarbettschema (11), dem der Terminus "präkapilläre Sphinkteren" entstammt, muß mit Vorbehalt gebraucht werden. Sollte dieses Schema, wie behauptet wird, keine allgemeine Gültigkeit besitzen (73), so sind die Befunde an den präkapillären Sphinkteren auf muskuläre Elemente in den Arteriolen und Metarteriolen zu übertragen. Die spontane Vasomotion läßt im weiteren Schockverlauf nach und verschwindet schließlich ganz. Es kommt zur Stase, die jetzt zur schweren hypoxischen Schädigung des Gewebes führt. Beim nun folgenden terminalen Kollaps sind die Gefäße weit und völlig reaktionslos. Dadurch kann eine Spontanrhexis eintreten. Daß beim Übergang von der hyperreaktiven zur hyporeaktiven Phase des Schocks gegenüber Katecholaminen das Vorliegen eines kontinuierlich und in steigender Menge gebildeten Vasodilatators sehr passend wäre, leuchtet wiederum ein. Die Befunde SCHAYER's und die hier vorliegenden sprechen dafür, daß diese Substanz Histamin ist.

Es bleibt die Frage nach dem Stimulus, welcher den Anstoß zur Aktivitätserhöhung der "induzierbaren" HDC gibt. Wie erwähnt, dachten wir zuerst an die Katecholamine, vor allem, wenn die HDC auch unter Normalbedingungen eine Rolle bei der Aufrechterhaltung der Homöostase spielen sollte, wofür erste Anhaltspunkte vorhanden sind (91). Diese Annahme müßte aber noch weiter gestützt werden. Die Untersuchung des sog. "Adrenalinschocks" und die Applikation von Noradrenalin soll diese Frage weiter klären. In Betracht kommt ferner als Stimulus das Endotoxin selbst, das ja im reticulohistiozytären System (RHS) - speziell im RES - gespeichert wird und dort sicher Reaktionen auslöst. Diese Annahme würde jedoch die Bedeutung der HDC von vornherein auf den Endotoxinschock beschränken, wenn man von der Behauptung FINE's absieht, daß jeder Schock infolge Endotoxinresorption aus dem Darm als Endotoxin-

schock endet. Diese Meinung ist umstritten; sie wurde jedoch von FINE erst kürzlich wieder vertreten (24). Zu diskutieren wäre noch, ob andere vasoaktive Substanzen die Histaminbildung stimulieren können, zum Beispiel Serotonin, das rasch aus Thrombozyten freigesetzt wird. Ähnlich ist dies bei den Plasmakininen, die ebenso wie das Histamin als kreislaufregulierender Faktor, der im Schock und bei der Entzündung die letztlich zerstörende Wirkung ausübt, diskutiert werden. Bradykinin wirkt 20 mal stärker gefäßerweiternd als Histamin. MEYER und WERLE konnten kürzlich im Endotoxinschock beim Hund einen raschen Abfall des Serumkininogenspiegels nachweisen und darüberhinaus mit Hilfe eines Kallikrein-Inhibitors die Kreislaufverhältnisse bei Hunden deutlich bessern, sowie die Überlebenszeit verlängern (68). Weitere Untersuchungen der kininbildenden Kapazität des Blutserum während verschiedener Formen der schockbedingten Kreislaufinsuffizienz sollten dies weiter abklären. Von Interesse sind in diesem Zusammenhang Befunde, die von einer Kininfreisetzung durch Histamin berichten (63). Umgekehrt wäre es denkbar, daß die am Anfang auftretende schnelle Kininfreisetzung den Stimulus der induzierten Histaminbildung darstellt.

Einer der Hauptgründe, weshalb das Histamin als Schock-"toxin" verworfen worden war, war die Wirkungslosigkeit der sog. Antihistaminika. Bereits 1950 beobachteten HALEY und ANDEN nach örtlicher Anwendung von diversen, in ihrer Struktur sehr unterschiedlichen Antihistaminika, bei welchen zumeist bis heute keine andere Wirkung an den peripheren Gefäßen als die Antihistaminwirkung bekannt ist, jeweils einen kompletten Verschluß der präkapillären Sphinkteren an der vorgelagerten Mesoappendix der Ratte (42). GLAZKO und DILL berichteten von einer bei den üblichen Indikationen vorliegenden und ausreichenden Plasmakonzentration von 0,1 - 0,3 µg/ml nach intravenöser Gabe von Diphenhydramin (34). Die von HALEY und ANDEN (42) und später in

Bestätigung dieser Befunde von CONARD (13) benützten Diphenhydramindosen lagen im Bereich von 10^{-3}m, das bedeutet 225 µg/ml; derartige Plasmakonzentrationen lassen sich natürlich therapeutisch mit keiner Applikationsart erreichen. Hiermit erscheint nicht nur die von SIR THOMAS LEWIS auch im protrahierten Schock geforderte und später aufgegebene H-Substanz (59. 60) in einem neuen Licht, es folgt auch, daß es sich gegebenenfalls um eine Art der Histaminwirkung handeln muß, wie sie in anderem Zusammenhang schon länger bekannt ist: Um eine "intrinsic"Wirkung. Das bedeutet eine Wirkung an oder in der Nähe der Bildungsstätte. Die fehlende Erhöhung der Serum- und Gewebskonzentration des Histamin, und die hohen zur Hemmung erforderlichen Antihistaminikadosen lassen bei dem doch bedeutenden geforderten Effekt diese Notwendigkeit erkennen. Nachdem sich der Rezeptor in der Gefäßwand - wahrscheinlich an deren glatter Muskulatur - befindet, kommen als Sitz des Enzyms nur die Gefäßwand und hier wiederum die Muskel- oder Endothelzelle oder periadventitielle Zellen in Frage. Am wahrscheinlichsten ist dabei der Sitz des Enzyms in den Endothelzellen, da diese als Bestandteile des RES noch ursprüngliche Potenzen der Mesenchymzelle besitzen oder in adventitiellen Elementen, unter denen sich pluripotente Bindegewebszellen befinden. Außerdem, und das ist in diesem Zusammenhang noch interessanter, gehen aus perivasculär gelegenen Zellen zu einem bestimmten Zeitpunkt Des Embryonalwachstums die Mastzellen hervor, die ebenfalls eine HDC-Aktivität besitzen (80). Es liegt nahe, hier an Parallelitäten in der Enzymausstattung solcher Zellen zu denken. Das gebildete Histamin ist dann nur eine sehr kleine Strecke vom Rezeptor entfernt, kann dort wirksam werden, wird dann mit dem Blutstrom weggeschwemmt und abgebaut. Diese Histamin-"Clearance" des Serum ist sehr hoch (s. S. 56).

Die induzierte Histaminbildung ist also charakterisiert 1. durch eine Stunden nach der Endotoxingabe, stetig steigende Syntheserate des Histamin (s.Abb. 2). Die nachweisbare Gewebs- und Blutkonzentration muß dabei nicht erhöht sein, die Gewebskonzentration kann vielmehr wegen der vorausgehenden Freisetzung des Mastzellhistamin eher erniedrigt sein, was wir bei unseren fluorometrischen Untersuchungen auch feststellen konnten. 2. durch eine "intrinsic"Wirkung, die den Sitz des Enzyms in oder an den Gefäßen wahrscheinlich macht. Derlei Vorgänge waren früher gar nicht bekannt (7), weil es keine geeigneten Methoden gab, sie zu untersuchen. All das macht verständlich, daß das adaptativ gebildete Histamin bei der Betrachtung schwerer schockbedingter Zirkulationsstörungen nicht aufgefunden werden konnte.

Eine weitere Möglichkeit wäre, daß die vermehrte Histaminbildung nur scheinbar vorhanden ist, und daß sie auf einer Hemmung des Histaminabbaues beruht.

Es gibt zwei Hauptabbauwege des Histamin: Der eine führt unter Katalyse einer Diaminoxydase (DAO, in diesem Fall Histaminase) zur Imidazolessigsäure, die zum Teil mit Ribose verknüpft wird; dieser Stoffwechselweg macht bei der Ratte 60% des gesamten Abbaues aus (83). Der andere Hauptabbauweg ist die Ringmethylierung am Stickstoffatom 1 oder 3 durch die N-Methyltransferase, der eine teilweise Acetylierung folgt; dieser metabolische Weg macht bei den meisten Tierspezies nur 10 - 15% des Umsatzes aus (83). Eine Ausnahme bildet die Maus, bei der 80% des Histaminabbaues auf die Methylierung entfallen. Ein weiterer Abbauweg, der aber keine größere Bedeutung besitzt, ist die Acetylierung an der Aminogruppe im Sinne einer Säureamidbildung. Diese Ergebnisse wurden mit Hilfe der Injektion ^{14}C-markierten Histidin und Messung der Urinausscheidung der verschiedenen Metaboliten gewonnen.

Die Aminooxydasen wurden bei unseren in vitro-Versuchen durch Aminoguanidin zu 80 - 100% gehemmt; die Methylierung

zu hemmen, haben wir nur in der Rattenleber versucht, dort ohne erkennbaren Erfolg. Bei der Maus, wo dies bedeutsam wäre, haben wir den Hemmstoff Chlorpromazin nicht zugegeben, auch deshalb, weil Methylhistamin noch das BSH-Kristallisationsprodukt ergibt und damit mitbestimmt wird - anders als bei der fluorometrischen Methode - was KAHLSON unter den Vorzügen der Isotopenmethode aufführt (52). Bei der geforderten "intrinsic"Wirkung und dem schnellen Abbau des Histamin in vivo kommt es nämlich nicht darauf an, ob man in vitro wirklich Histamin nachweist oder eines seiner Abbauprudukte, da die HDC im Körper sicher strukturbezogen ist und diese Strukturen, d.h. die Beziehung Bildungsort-Rezeptor, in vitro in jedem Fall zerstört wird. Aus dem gleichen Grund gewinnt man nicht viel, wenn man die abstrakte Einheit Impulse pro Minute pro 100 mg BSH in µg pro Gramm Gewebe oder pro Gramm Gewebsprotein umrechnet (s.S. 59), da man von der in vitro-Bildung des Histamin in keinem Fall auf die in vivo-Aktivität des Enzyms schließen kann, wie auch keine Aussage über die Stärke der Histaminwirkung am Gefäß möglich ist. Diese kann die des injizierten Histamin bei weitem übertreffen.

Bedenklicher wäre die Methylierung des Histidin an der Seitenkette zu alpha-Methylhistidin, da das Decarboxylierungsprodukt alpha-Methylhistamin keine pharmakologische Wirkung mehr besitzt. Alpha-Methylhistidin ist als starker Hemmstoff der Histidindecarboxylase bekannt (54). Dieser Stoffwechselschritt ist jedoch weitgehend ohne Bedeutung (57).

Neuerdings haben GIERTZ, HAHN und SCHMUTZLER auf eine Aktivierung der Plasmahistaminase im anaphylaktischen und im Anaphylatoxinschock hingewiesen (30), welche nach 4-stündiger Inkubation die Histaminkonzentration auch im Normalserum stark zu senken vermag. Da es sich um zwei primäre Schockformen handelt, diskutieren die Autoren eine Histaminasefreisetzung aus der Leber unter dem Einfluß von Heparin (98). Eine adaptative Aktivitätserhöhung der Diamin-

oxydase (DAO) wäre demnach ebenfalls denkbar, was zusammen mit der DAO-Freisetzung bei der Anaphylaxie ein Analogon zum System Mastzellhistamin - "induziertes" Histamin darstellen würde. Nach all diesen Erwägungen scheint zusammen mit dem später zu erörternden Glucocorticoideffekt eine Deutung unserer Befunde als Abbauhemmung sehr unwahrscheinlich.

In diesem Zusammenhang scheinen die Mitteilungen von WERLE und SCHIRREN sehr wesentlich, die durch intraperitoneale Gabe eines Antigens einen protrahierten anaphylaktischen Schock hervorriefen und dessen Verlauf durch Gabe eines hochgereinigten DAO-Präparates mildern konnten (113). GIERTZ und Mitarb. diskutieren diesen Befund und weisen noch ausdrücklich darauf hin, daß beim protrahierten Schock Histamin keine wesentliche Rolle spiele und die Deutung dieses Befundes daher offenbliebe (32).

Handelt es sich bei der induzierbaren HDC um eine echte Enzyminduktion oder um eine rasche Entstehung aktiven Enzyms aus inaktiven Vorstufen? An die Möglichkeit eines unterschiedlichen Angebots von Substrat infolge von Permeabilitätsänderungen ist allgemein vor allem bei histochemischen oder autoradiographischen Untersuchungen zu denken; bei den in vitro-Methoden ist diese Möglichkeit ausgeschlossen.

Echte Enzyminduktion, d.i. Neubildung von Enzymprotein, ist relativ selten. Bei der gründlichen Untersuchung dreier nach erhöhtem Substratangebot und Wirkung anderer chemischer Stimuli vermehrt aktiver Enzyme, der Tryptophanpyrrolase, der Tyrosintransaminase und der p-Hydroxyphenylpyruvatoxydase, handelte es sich nur bei einem, der Tryptophanpyrrolase, um echte Enzyminduktion (58). Eine neuerdings gebräuchliche Methode, Enzyminduktionen zu prüfen, ist die Gabe bestimmter Antibiotika, die neben ihren bakteriostatischen auch cytostatische Eigenschaften besitzen. Inwieweit diese toxisch bedingt sind, ist noch

ungeklärt (41). Es hat sich herausgestellt, daß die Substanzen an verschiedenen Stellen der Protein- und damit auch der Enzymsynthese eingreifen (s.S.33). Auf diese Weise fand man auch, daß nicht jede Enzymneubildung die Aktivierung von Genorten, d.h. eine Vermehrung von Desoxyribonukleinsäure verlangt, sondern daß eine vermehrte Eiweißsynthese allein in den aktivierten Ribosomen ablaufen kann (4, 20, 23, 41). Ein derartiger Mechanismus wurde soeben für die spezifische HDC des Magens, die nach Fütterung erhöhte Aktivität zeigt, gefunden (99). In den vorliegenden Untersuchungen wurde eine relativ niedrige Dosis, 500 µg Actinomycin C pro kg Körpergewicht, verabreicht. Die LD_{50} beträgt 1 mg pro kg Körpergewicht (41). Cycloheximid wurde mit 25 - 35 µg pro kg Körpergewicht in einer mittleren Dosis gegeben. Da beide Substanzen intraperitoneal injiziert wurden und uns über die Resorbierbarkeit keine genauen Angaben vorlagen, muß offen bleiben, wie hoch die effektive Blutkonzentration war. Das Ausbleiben einer Hemmung der Enzymaktivität spricht vorläufig gegen das Vorliegen einer Enzyminduktion und zwar sowohl gegen eine Neubildung von "messenger"-RNS als auch gegen eine de novo Proteinsynthese im allgemeinen. Die Corticoid- und vor allem die STH-Beeinflussung wären als Hemmung echter Enzyminduktion allerdings leichter deutbar. Überraschend ist darüberhinaus der Befund, daß Actinomycin nach Endotoxingabe die Enzymaktivität noch weiter erhöht. Die Substanz besitzt nämlich wie die Corticoide einen starken lymphoklastischen Effekt (41), sowie einen hemmenden Einfluß auf die DNS-Syntheserate, so daß man an eine gleiche Wirkung der beiden Substanzen auch in Bezug auf die Beeinflussung der HDC hätte denken können. Bei der komplexen Wirkung der Hormone sind weitreichende Analogieschlüsse jedoch verständlicherweise nicht zulässig. Die HDC des Magens wird durch Corticoide z.B. aktiviert (82, 103), während verschiedene andere Enzyme gehemmt werden (40). Bei der vorliegenden Sachlage haben wir das Enzym als sog. induzierbare HDC bezeichnet, nachdem der Ausdruck schon vor längerer Zeit eingeführt wurde (84, 86, 87). Korrekter wäre vielleicht, vom adaptativen Anstieg der HDC zu sprechen.

Ursprünglich wurde, wie erwähnt, angenommen, daß ein kontinuierlicher Anstieg der HDC-Aktivität bis zum Tod des Individuum im Endotoxinschock erfolgt. Nach der Untersuchung des zeitlichen Verhaltens der Enzymaktivität (s. Abb. 2), wurde nach 20 Stunden bereits ein Abfall der Enzymaktivität gefunden. Eine exzessive Histaminbildung konnte damit nicht, wie SCHAYER noch annahm (89), die letztlich zum Tode führende Ursache sein, sondern es ist doch die nunmehr durch Histamin mit hervorgerufene Hypoxydose, die zu diesem Zeitpunkt bereits zum irreversiblen Gewebsschaden geführt hat, heranzuziehen.

Ein Einwand kann sich aus der Frage ergeben, ob die Histaminbildung überhaupt ausreicht, eine genügend starke Wirkung im Bereich der terminalen Strombahn zu entfalten. Rechnet man die in 3 Stunden in vitro gebildeten Mengen in µg aus, so ergeben sich bei der Rattenlunge 0,05 µg, bei der Mäuselunge 0,2 µg neugebildetes Histamin pro g Gewebe bei einem Angebot von nur 5 µg markiertem Histidin pro Ansatz (600 000 Impulse pro Minute entsprechen 1 µg gebildetem Histamin). Wie weit sich die Histaminbildung durch Mehrangebot von radioaktivem Substrat steigern läßt, wurde nicht geprüft, da annähernd physiologische Verhältnisse beibehalten werden sollten. Es bleibt der Hauptvorbehalt, daß das Enzym strukturbezogen ist und daß man aus in vitro-Versuchen nur indirekt und annähernd auf seine in vivo-Bedeutung schließen kann, nicht aber auf seine Aktivität in vivo.

Ist das Histamin nun trotzdem ein Nebenprodukt oder hat es überhaupt keine Beziehung zum Schockgeschehen? Die HDC-Aktivität steigt langsam an, sie erreicht dann bemerkenswerte Grade, wenn die ersten schweren Störungen der Vasomotion einsetzen (124). Die adaptative Histaminbildung folgt dem Kapillarschaden nicht nach, sondern sie geht ihm voraus.

Sicher werden die autonomen Änderungen der Mikrozirkulation nicht allein durch ein Katecholamin-Histamingleichgewicht reguliert. Viele andere Substanzen, Faktoren der Blutgerinnung, die Kinine, Angiotensin, andere biogene Amine und

Hypophysenhormone mögen Bedeutung haben. Kürzlich wurde z.B. über einen Serotonin-Bradykinin-Mechanismus für die Venomotorik berichtet, der durch den Proteinase-Inhibitor epsilon-Aminocapronsäure und durch BOL 148 (ein Lysergsäurediäthylamidabkömmling mit Antiserotonineigenschaften) gehemmt werden kann (107).

Der sog. induzierbaren HDC wird mindestens eine additive Wirkung im Rahmen der Störmechanismen der Mikrozirkulation zukommen, sei es durch direkte Histaminwirkung am Gefäß, sei es als Mediatorsubstanz nachfolgender Kininfreisetzung (63).

Der beste Beweis für die Bedeutung des adaptativ gebildeten Histamin ist vorläufig ein indirekter: Die Beeinflussung der HDC durch Glucocorticoide und die häufig lebensrettende Wirkung derselben gerade beim Endotoxinschock.

Die Beeinflussung der "induzierbaren" Histidindecarboxylase durch körpereigene Hormone.

Die schon früh beobachteten Einflüsse von Nebennierenrindensteroiden (Glucocorticoide) auf den Histaminstoffwechsel wurden den durch Glucocorticoide veranlaßten Permeabilitätsänderungen zugeschrieben. So war nach Mastzellentspeicherung der Effekt einer erneuten Gabe der histaminliberierenden Substanz bei gleichzeitiger Glucocorticoidbehandlung weit schwächer als beim ersten Mal; dies wurde als eine Erschwerung der Histidinaufnahme in die Mastzellen gedeutet (38. 96).

Der einzige gesicherte Einfluß der Glucocorticoide auf die Mikrozirkulation ist, wie erwähnt, der einer sofort auftretenden Vasokonstriktion auch nach örtlicher Anwendung (2, 27, 29, 120). Dieser Effekt ist schon nach wenigen Minuten erkennbar, so daß als Ursache eine Suppression der Histaminsyntheserate hierfür nicht in Frage kommt. Dieser Mechanismus ist also zusätzlich wirksam, auch er sensibilisiert die Gefäße rasch gegenüber Katecholaminen und mag

so vor allem als Gegenspieler des gebundenen Histamin Bedeutung besitzen, d.h. bei der akuten Phase der Entzündung und etwa beim anaphylaktischen und beim Histaminschock.

Die überzeugende Wirkung der Glucocorticoide vor allem beim Endotoxin- und septischen Schock ist auch durch die Therapie menschlicher Erkrankungen vielfach bestätigt worden (105). Es hatte sich ferner herausgestellt, daß die Hormone tierexperimentell noch 4 Stunden nach Gabe letaler Endotoxindosen zu einer verblüffenden Besserung des Zustandsbildes führten (106). Der zu Grunde liegende Mechanismus wurde immer als unklar bezeichnet (9, 65, 106). Unter anderem wurde eine hohe Endotoxinbindungskapazität der Corticoide und ungeklärte metabolische Änderungen, Einwirkungen auf das RES, angenommen. Viele experimentelle Befunde waren vor allem an adrenalektomierten Tieren erhoben worden. Dabei zeigte sich, daß bei diesen Tieren unter normalen Bedingungen Lebenserwartung, Wachstum und der Zellmetabolismus nicht beeinträchtigt waren, daß sie jedoch eine erheblich verminderte Resistenz gegenüber den verschiedensten Stressituationen zeigten (92). Durch exogene Glucocorticoidverabreichung ließen sich die Stressreaktionen wieder normalisieren.

SCHAYER hatte die direkt vasokonstriktorische Glucocorticoidwirkung, die allerdings von WEIL angezweifelt wird (106), auch für den Antagonismus gegenüber der induzierten Form des Histamin diskutiert (85, 90, 91, 92, 93).

Die vorliegenden Untersuchungen stellen ein neues Konzept der Glucocorticoidwirkung auf die Mikrozirkulation dar, nämlich über ihre Hemmung der sog. induzierbaren HDC. Liegt eine echte Enzyminduktion vor, so kann man in Analogie zu der depressiven Wirkung der Glucocorticoide auf Antigen-Antikörperreaktionen und auf die Proliferation des RHS, deren experimentelle Grundlage eine Verringerung des Thymidineinbaues und der Zellzahl in Fibroblastenkulturen ist (28), auch hier von einem ähnlichen Angriffspunkt am RHS sprechen. Vorläufig bleibt die genaue Beziehung

zwischen Corticoiden und Minderung der HDC-Aktivität ungeklärt. Der Versuch einer Deutung muß sich, wenn auch auf anderer Grundlage, in einer Wiederholung von anderen Autoren ausgesprochener Vermutungen wie Membranänderungen, Enzymtransportstörungen oder Behinderung der Energieausnutzung erschöpfen.

Der Glucocorticoideffekt ist bis jetzt der wichtigste Beweis für die Bedeutung der "induzierbaren" HDC; denn der therapeutische Wert der Glucocorticoide läßt sich auf keine andere Weise gut erklären. Gleichzeitig muß man sich aber vor Verallgemeinerungen hüten; denn im traumatischen und im hämorrhagischen Schock scheint den Glucocorticoiden eine vergleichbare therapeutische Wirkung zu fehlen, auch wenn FINE noch an seiner Theorie der Endotoxinresorption aus dem Darm bei jeder Schockform festhält (24). Man kann sich vorstellen, daß z.B. beim hämorrhagischen Schock der Blutverlust und die durch ihn bewirkte ischämische Hypoxie des Gewebes allein genügt, einen irreversiblen Schock hervorzurufen, daß der Endotoxinschock eine Sonderstellung einnimmt, weil er eine besonders starke Alteration des RHS auslöst und daß der bei den meisten anderen Schockformen von Anfang an vorhandene protrahierte Blut- oder Plasmaverlust die HDC-Wirkung wegen des unterschiedlichen "Histaminbedarfes" der größeren gegenüber den kleineren Gefäßen, z.B. den Präkapillaren, stark modifiziert. Ob hier die "induzierbare" HDC ebenfalls Bedeutung besitzt, wird sich erweisen müssen.

Interessante Aspekte ergeben sich noch in Bezug auf das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen: Der Endotoxinschock wird durch Glucocorticoide gebessert, das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen wird durch sie erst hervorgerufen oder verschlechtert. Man kann durch Cortisonanwendung sogar die erste, "präparierende" Endotoxininjektion ersetzen (s.o., 50). Eine mögliche Erklärung des Geschehens als excessives Überwiegen der Katecholaminwirkung bei fehlender HDC-Aktivität ist evident. Die zweite Endotoxininjektion fällt näm-

lich in den Zeitraum des Abfalles der HDC, die möglicherweise nicht sofort wieder genauso stark aktiviert werden kann. Ähnlich läßt sich auch die Entstehung der Endotoxintoleranz zum Teil erklären. (Beim adrenalektomierten Tier wirkt allerdings eine Katecholamininfusion ebenfalls rasch tödlich. Es tritt schnell Toleranz und darauffolgende unbeeinflußbare Vasodilatation ein (71)).

Die Steigerung der HDC-Aktivität durch somatotropes Hormon kann erst richtig gewertet werden, sobald experimentell nachgeprüft ist, ob sich ein Schockzustand durch somatotropes Hormon verschlimmern läßt. Sollte sich die Bedeutung der sog. induzierbaren HDC auch bei der Entzündung beweisen lassen, so wäre die Beeinflussung der HDC durch STH bei Betrachtung der prophlogistischen Wirkung dieses Hormons gut verständlich. Der STH-Effekt wäre wiederum bei Vorliegen einer Enzymneusynthese besser erklärbar, wenn man die experimentell nachgewiesene Steigerung der RNS-Synthese durch STH betrachtet (17, 44). Man wird versuchen müssen, die Rolle der sog. induzierbaren HDC bei weiteren örtlichen und systemisierten Kreislaufläsionen zu prüfen, was bislang nur für den Tourniquetschock geschehen ist (88), erst dann wird es möglich sein, über ihre allgemeine Bedeutung für die autonome Steuerung der terminalen Strombahn Angaben zu machen.

S C H L U S S

Sollte das adaptativ gebildete Histamin nur für den Endotoxinschock und den septischen Schock Bedeutung besitzen, so wäre immerhin über diese Tatsache hinaus ein Schritt zur Klärung der bei diesem Geschehen seit langem viel diskutierten Glucocorticoidwirkung getan.

Läßt sich die sog. induzierte Histaminbildung jedoch einerseits bei verschiedenen anderen - auch histaminsensiblen - Säugetierspezies und andererseits bei unterschiedlichen Formen des Schocks und der Entzündung auffinden, so wäre durch die vorliegenden Untersuchungen ein neues Prinzip für die autonomen Änderungen der Mikrozirkulation gefunden, das durch folgende Eigenschaften gekennzeichnet sein muß:

1. Durch ein Fließgleichgewicht mit hoher Syntheserate und gleichzeitiger hoher Abbaugeschwindigkeit des Histamin, wobei die aktuelle Gewebskonzentration nicht ansteigt.
2. Durch die "intrinsic"Wirkung dieser Form des Histamin, d.h. die Wirkung in der Nähe des Bildungsortes oder am Bildungsort selbst; dabei wäre der Sitz des Enzyms in der Nähe der Kapillaren, möglicherweise in den Endothelzellen selbst, am verständlichsten.
3. Durch seine Beeinflußbarkeit durch körpereigene Hormone.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ACKERMANN, D.:
Über den bakteriellen Abbau des Histidins.
Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 65, 504 (1910).

2. ASHTON, N. und C. COOK:
In vivo observations of the effects of cortisone upon the blood vessels in rabbit ear chambers.
Brit. J. exp. Pathol. 33, 445 (1952).

3. BARGER, G. und H.H. DALE:
The presence in ergot and physiological activities of betaimidazolylethylamine.
J. Physiol. (Lond.) 40, 38 (1910).

4. Biologics from Calbiochem:
Antibiotics and replication.
Nummer 44, Januar 1966.

5. BERRY, L.J., SMYTHE, D.S. und L.G. YOUNG:
Effects of bacterial endotoxins on metabolism.
I. Carbohydrate depletion and the protective role of cortisone.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 110, 389 (1959).

6. BERRY, L.J. und D.S. SMYTHE:
Effects of bacterial endotoxins on metabolism.
II. Proteincarbohydrate balance following cortisone inhibition of intestinal absorption and adrenal response to ACTH.
J. exp. Med. 110, 407 (1959).

7. v. BERTALANFFY, L.:
Biophysik des Fließgleichgewichts.
Vieweg u. Sohn-Verlag, Braunschweig 1953.

8. BOHLE, A. und H.-J. KRECKE:
Über das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen (sog. generalisiertes Sanarelli-Shwartzman-Phänomen) des Menschen.
Klin. Wschr. 37, 803 (1959).

9. BUCHBORN, E.:
Schock und Kollaps.
Handb. inn. Med. IX/1, Hrsg. G. v. BERGMANN, W. FREY und H. SCHWIEGK,
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1960,
S. 952

10. BUCHBORN, E.:
Therapie des Schocks.
Ärztl. Prax. 19, 1299 (1967).

11. CHAMBERS, R. und B.W. ZWEIFACH:
Topography and function of the mesenteric capillary circulation.
Am. J. Anat. 75, 143 (1944).

12. CHEDID, L. und M. PARANT:
Study on tolerance in adrenalectomized mice by means of an endotoxin labelled with ^{51}Cr.
Ann. Inst. Past. 101, 170 (1961).

13. CONARD, V.:
Action des antihistaminiques de synthèse sur la circulation capillaire au niveau du peritoine chez le rat.
Compt. rend. Soc. Biol. 145, 1875 (1951).

14. DALE, H.H.:
On some chemical factors in the control of circulation.
Croonian Lectures, II. and III.
Lancet 216, 1232 (1929).

15. DALE, H.H.:
Discussion on traumatic shock.
Proc. roy. Soc. Med. 28, 1493 (1935).

16. DEANE, H.W.:
In Handbuch der experimentellen Pharmakologie, XIV/1. Hrsg. O. EICHLER und A. FARAH, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1962, S. 74, 103.

17. DI STEFANO, H.S., BASS, A.D., DIERMEIER, H.F. und J. TEPPERMANN:
Nucleic acid patterns in rat liver following hypophysectomy and growth hormone administration.
Endocrinology 51, 386 (1952).

18. DUBOS, R.J., SCHAEDLER, R.W. und D. BÖHME:
Effects of bacterial endotoxins on susceptibility to infection with gram-positive and acid-fast bacteria.
Fed. Proc. 16, 856 (1957).

19. EICHLER, O., SPEDA, G. und E. WOLFF:
Über die Histaminwerte im Blutplasma bei Anoxaemie.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmakol. exp. Path. 202, 412 (1943).

20. ENGELSMA, G.:
Effect of cycloheximide on the inactivation of phenylalanine deaminase in gherkin seedlings.
Naturwissenschaften 54, 319 (1967).

21. FELDBERG, W.:
Histamine and anaphylaxis.
Ann. Rev. Physiol. 3, 671 (1941).

22. FLEISCHER, W.R. und W.E. ZIMMERMANN:
Milchsäure-Acidose and "Excess-Lactat" als Maßstäbe einer irreversiblen Gewebsschädigung.
Verh. dt. Ges. Pathol., 49. Tagung, Saarbrücken 1965, Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart, S. 287.

23. FICQ, A.:
Effects de l'actinomycine C et de la puromycine sur le metabolisme de l'oocyte en croissance.
Exp. Cell Res. 34, 581 (1964).

24. FINE, J.:
The intestinal circulation in shock.
Gastroenterology 52, 454 (1967).

25. FREEDMAN, H.H.:
Passive transfer of tolerance to pyrogenicity of bacterial endotoxin.
J. exp. Med. 111, 453 (1960).

26. FREEDMAN, H.H.:
Further studies on passive transfer of tolerance to pyrogenicity of bacterial endotoxin. The febrile and leucopenic responses.
J. exp. Med. 112, 619 (1960).

27. FRITZ, J. und R. LEVINE:
Action of adrenal cortical steroids and norepinephrine on vascular responses of stress of adrenalectomizes rats.
Am. J. Physiol. 165, 456 (1951).

28. GALLEGOS, A.J., STEVENS, W. und D.L. BERLINER:
The effects of corticosteroids on DNA synthesis during the life cell cycle of fibroblasts.
Fed. Proc. 26 (2), 845 (1967).

29. GERMUTH, F.G.:
The role of adrenocortical steroids in infection, immunity and hypersensitivity.
Phyrmacol. Rev. 8, 1 (1956).

30. GIERTZ, H., HAHN, F. und W. SCHMUTZLER:
Über die Aktivität der Plasmahistaminase bei verschiedenen Schockformen des Meerschweinchens.
Int. Arch. Allergy 25, 343 (1964).

31. GIERTZ, H., HAHN, F., SCHMUTZLER, W. und J. KOLLMEIER:
Plasma- und Bluthistamin bei verschiedenen Schockformen des Meerschweinchens.
Int. Arch. Allergy 25, 26 (1964).

32. GIERTZ, H., HAHN, F., SESEKE, G. und W. SCHMUTZLER:
Über die Wirkung von Heparin und Aminoguanidin auf den anaphylaktischen, Anaphylatoxin- und Histaminschock des Meerschweinchens.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmakol. exp. Path. 256, 26 (1967).

33. GILBERT, R.P.:
Mechanisms of the hemodynamic effects of endotoxins.
Physiol. Rev. 40, 245 (1960).

34. GLAZKO, A.J. und W.A. DILL:
Biochemical studies on diphenhydramine (benadryl).
II. Distribution in tissues and urinary secretion.
J. Biol. Chem. 179, 403 (1949).

35. GLEDHILL, A.W.:
Sparing effect of serum from mice treated with endotoxin upon certain murine virus diseases.
Nature (Lond.) 183, 185 (1959).

36. GÖING, H.:
Persönliche Mitteilung.

37. GÖING, H.:
Die Wirkungsweise von Pyrogenen und bakteriellen Endotoxinen.
Klin. Wschr. 38, 1069 (1960).

38. GOTH, A., ALLMAN, R.M., MERRIT, B.C. und J. HOLMAN:
Effect of cortisone on histamine liberation induced by tween in the dog.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 78, 848 (1951).

39. GOOD, R.A. und L. THOMAS:
Studies on the generalized Shwartzman reaction.
II. The production of bilateral cortical necrosis of the kidneys by a single injection of bacterial toxin in rabbits previously treated with Thorotrast or Trypan Blue.
J. exp. Med. 96, 625 (1952).

40. GROSS, U.:
Enzymrepression im Granulationsgewebe durch Hydrocortisonacetat.
Verh. dt. Ges. Pathol., 51. Tagung, Göttingen 1967, im Druck.

41. HACKMAN, C.:
Actinomycin C: Biologische Eigenschaften und therapeutische Verwendung.
La Clin. Therapeut. 7, 406 (1954).

42. HALEY, T.J. und M.R. ANDEN:
The effect of several new antihistaminic drugs on the mammalian capillary bed.
J. Pharmacol. exp. Therap. 100, 393 (1949).

43. HEIFFER, M.H., MUNDY, R.L. und B. MEHLMAN:
Effects of lethal doses of bacterial endotoxin (E. coli) on sympathetic neurohormones in the rabbit.
Am. J. Physiol. 198, 1307 (1960).

44. HEILMEYER, L. und H.J. KÄHLER:
Die Entzündung und ihre Steuerung.
Benno Schwabe-Verlag, Basel-Stuttgart, 1962, S. 113.

45. HELLER, L.:
Akute Notfälle in der Gynäkologie und Geburtshilfe.
Regensb. ärztl. Fortb. 14, 97 (1966).

46. v. HEYNINGEN, W.E.:
Recent development in the field ob bacterial toxins.
Schweiz. Z. Path. Bakt. 18, 1018 (1955).

47. HINSHAW, L.B., SOLOMON, L.A., GILL, C.C., FREENI, P.F., BRANTLEY, R.T. und B.J. GUNTER:
Increases in capillary permeability in endotoxin shock.
Fed. Proc. 26, (2), 267 (1967).

48. HINSHAW, L.B., VICK, J.A., CARLSON, C.H. und T.L. FAN:
Role of histamine in endotoxin shock.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 104, 379 (1960).

49. HOFF, H.F., GOTTLOB, R. und G. BLÜMEL:
Ultrastructural changes in arteries induced by endotoxin.
Naturwissenschaften 54, 287 (1967).

50. ILLIG, L.:
Das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen.
8. Symp. Dt. Arbeitsgemeinschaft für Blutgerinnung.
Schattauer-Verlag, Stuttgart, 1964, S. 1.

51. JANCSÓ, M.:
Histamine as a physiological activator of the reticulo-endothelial system.
Nature (Lond.) 160, 227 (1947).

52. KAHLSON, G.:
Nascent histamine and methods of its estimation.
Proc. XXII. Int. Congr. Physiol., Leiden 1962.

53. KAHLSON, G., NILSSON, K., ROSENGREN, E. und B. ZEDERFELDT:
Wound healing as dependnet on rate of histamine formation.
Lancet 279, 230 (1960).

54. KAHLSON, G., ROSENGREN, E. und R. THUNBERG:
Observations on the inhibition of histamine formation.
J. Physiol. 169, 467 (1963).

55. KAHLSON, G., ROSENGREN, E. und H. WESTLING:
Increased formation of histamine in the pregnant rat.
J. Physiol. 143, 91 (1958).

56. KAMESWARAN, L. und G.B. WEST:
The formation of histamine in mammals.
J. Physiol. 160, 564 (1962).

57. KARLSON, P.:
Kurzes Lehrbuch der Biochemie.
Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, 1964.

58. KNOX, P.:
Adaptive enzymes in animals.
Symposium on enzymes and drug action.
Ciba Foundation, Churchill, Ltd., London 1962, S. 245.

59. LEWIS, T.:
Vascular reactions of the skin to injury.
IV. An Irresponsive condition of the vessels.
Heart 13, 153 (1926).

60. LEWIS, T.:
The blood vessels of the human skin and their responses.
Shaw, Ltd., London 1927.

61. LEWIS, D.H. und S. MELLANDER:
Competitive effects of sympathetic control and tissue metabolites on resistance and capacitance vessels and capillary filtration in skeletal muscle.
Acta physiol. scand. 56, 162 (1962).

62. LORENZ, W., KUSCHE, J. und E. WERLE:
Über eine neue Methode zur Bestimmung der Diaminoxydase-Aktivität.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 348, 561 (1967).

63. LORENZ, W. und E. WERLE:
Persönliche Mitteilung.

64. LILLEHEI, R.C., LONGERBEAM, J.K. und J.H. BLOCH:
Physiology and therapy of bacteremic shock.
Am. J. Cardiol. 13, 599 (1963).

65. LILLEHEI, R.C., LONGERBEAM, J.K., BLOCH, J.H. und W.G. MANAX:
Hemodynamic changes in endotoxin shock.
In Shock and Hypotension, The XII. Hahnemann 'Symposium.
Hrsg. L.C. MILLS und J.H. MOYER.
Grune and Stratton, New York and London, 1965, S. 442

66. MELBY, J.C. und W.W. SPINK:
Comparative studies on adrenal cortical function and cortisol metabolism in healthy adults and in patients with shock due to infection.
J. clin. Invest. 37, 1791 (1958).

67. MEYER, W.:
Klinik, Pathogenese und Therapie des Schockzustands bei Sepsis durch gramnegative Erreger.
Schweiz. med. Wschr. 96, 137 (1966).

68. MEYER, A. und E. WERLE:
Beeinflussung des Endotoxinschocks durch den Trypsin-Kallikrein-Inhibitor.
Verh. dt. Ges. inn. Med. 70, 299 (1964).

69. NYKIEL, F. und V.V. GLAVIANO:
Adrenal catecholamines in E. coli endotoxin shock.
J. appl. Physiol. 16, 348 (1961).

70. PATON, W.D.:
The release of histamine.
Progr. Allergy 5, 79 (1958).

71. RAMEY, E.R. und M.S. GOLDSTEIN:
Adrenal cortex and sympathetic nervous system.
Physiol. Rev. 37, 155 (1957).

72. RAŠKOVÁ, H. und J. VANĚČEK:
Pharmacology of bacterial toxins.
Pharmacol. Rev. 16, 1 (1964).

73. [illegible]:
Einführung in die Pathologie des Menschen.
[illegible]. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1961, S. [illegible].

74. [illegible]:
The Mast Cells.
Livingstone, London, England, 1959.

75. ROCHA E SILVA, M.:
Histamine.
Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1955, S. 43.

76. ROSENBERG, J.C., LILLEHEI, R.C., MORAN, W.H. und B. ZIMMERMANN:
Effect of endotoxin on plasma catecholamines and serum serotonin.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 102, 335 (1959).

77. SANARELLI, G.:
De la pathogenie du choléra. Le choléra expérimental.
Ann. Inst. Past. 38, 11 (1924).

78. SANDRITTER, W. und H.G. LASCH:
Pathologic aspects of shock.
In Meth. Achievm. exp. Path.
S. Karger, Basel-New York, Vol. 2, 1966.

79. SAYERS, G.:
The adrenal cortex and homeostasis.
Physiol. Rev. 30, 241 (1950).

80. SCHAUER, A.:
Die Mastzelle.
Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart, 1964.

81. SCHAYER, R.W.:
Formation and binding of histamine by free mast cells of rat peritoneal fluid.
Am. J. Physiol. 186, 199 (1956).

82. SCHAYER, R.W.:
Formation and binding of histamine by rat tissue in vitro.
Am. J. Physiol. 187, 63 (1956).

83. SCHAYER, R.W.:
Catabolism of physiological quantities of histamine in vivo.
Physiol. Rev. 39, 116 (1959).

84. SCHAYER, R.W.:
Relationship of induced histidine decarboxylase activity and histamine synthesis to shock from stress and from endotoxin.
Am. J. Physiol. 198, 1187 (1960).

85. SCHAYER, R.W.:
Significance of induced synthesis of histamine in physiology and pathology.
Chemotherapia 3, 128 (1961).

86. SCHAYER, R.W.:
Evidence that induced histamine is an intrinsic regulator of the microcirculatory system.
Am. J. Physiol. 202, 66 (1962).

87. SCHAYER, R.W.:
Induced histamine and microcirculatory regulation.
Proc. XXII. Int. Congr. Physiol., Leiden 1962, Vol. I, S. 852.

88. SCHAYER, R.W.:
Role of induced histamine in tourniquet shock in mice.
Am. J. Physiol. 203, 412 (1962).

89. SCHAYER, R.W.:
Relationship of induced synthesis of histamine to some biological actions of endotoxins.
International Symposium at the Institute of Microbiology, Rutgers, The State University, New Brunswick, N. J., Sept. 3, 1963.

90. SCHAYER, R.W.:
Induced synthesis of histamine, microcirculatory regulation and the mechanism of action of the adrenal glucocorticoid hormones.
Progr. Allergy 7, 187 (1963).

91. SCHAYER, R.W.:
Histidine decarboxylase in mast cells.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 103, 164 (1963).

92. SCHAYER, R.W.:
A unified theory of glucocorticoid action.
Perspectives in Biology and Medicine 8, 71 (1964).

93. SCHAYER, R.W.:
Histamine and autonomous responses of the microcirculation; relationship to glucocorticoid action.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 116, 891 (1964).

94. SCHAYER, R.W. und O.H. GANLEY:
Adaptive increase in mammalian histidine decarboxylase activity in response to nonspecific stress.
Am. J. Physiol. 197, 721 (1959).

95. SCHAYER, R.W., ROTHSCHILD, Z. und P. BIZONY:
Increase in histidine decarboxylase activity of rat skin following treatment with compound 48/80.
Am. J. Physiol. 196, 295 (1959).

96. SCHAYER, R.W., SMILEY, R.L. und K.J. DAVIS:
Inhibition by cortisone of the binding of new histamine in rat tissue.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 87, 590 (1954).

97. SHORE, P.A., BURKHALTER, A. und V.H. COHN, jr.:
Pharmacol. exp. Therap. 127, 182 (1959); zit. n.
UDENFRIEND, S.:
Fluorescence assay in Biology and Medicine.
Academic Press, New York, 1962, S. 177.

98. SCHMUTZLER, W., GIERTZ, H., HAHN, F. und P. KRULL:
Zur Frage der Heparin-Beteiligung bei der anaphylaktischen Histaminase-Freisetzung des Meerschweinchens.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. exp. Path. 257, 59 (1967).

99. SNYDER, H.S. und L. EPPS:
Histidine decarboxylase in rat stomach: mechanism of its activation by gastrin.
Fed. Proc. 26, (2), 786 (1967).

100. SPINK, W.W.:
From endotoxin to snake venom.
Yale J. Biol. Med. 30, 355 (1948).

101. STAUB, A.-M. und D. BOVET:
Action de la thymoxyéthyldiéthylamine et des éthers phénoliques sur le choc anaphylactique du cobaye.
Compt. rend. Séanc. Soc. Biol. 125, 818 (1937).

102. TELFORD, J.M. und G.B. WEST:
The formation of histamine in the rat.
J. Pharm. Pharmacol. 13, 75 (1961).

103. TELFORD, J.M. und G.B. WEST:
Some effects of corticosteroids on the metabolism of histamine and 5-hydroxytryptamine in the rat.
Brit. J. Pharmacol. 16, 360 (1961).

104. WATON, N.G.:
Studies on mammalian histidine decarboxylase.
Brit. J. Pharmacol. 11, 119 (1956).

105. WEIL, M.H. und K.S. ALLEN:
The effect of steroids on shock due to endotoxin.
In Inflammation and Diseases of Connective Tissues, A Hahnemann Symposium, Hrsg. L.C. MILLS und J.H. MOYER, Philadelphia, Saunders, 1961, S. 768.

106. WEIL, M.H., SHUBIN, H., UDHOJI, V.N. und L. ROSOFF:
Effects of vasopressor agents and corticosteroid hormones in endotoxin shock.
In Shock and Hypotension, The XII. Hahnemann Symposium, Hrsg. L.C. MILLS und J.H. MOYER, Grune and Stratton, New York and London, 1965, S. 470.

107. WEINER, R. und B.M. ALTURA:
Serotonin-Bradykinin synergism in the mammalian capillary bed.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 124, 494 (1967).

108. WEINSTEIN, L. und A.S. KLAINER:
Management of emergencies. IV. Septic shock-pathogenesis and treatment.
New Engl. J. Med. 274, 950 (1966).

109. WEISSBACH, H., LOVENBERG, W. und S. UDENFRIEND:
Characteristics of mammalian histidine decarboxylating enzymes.
Biochim. Biophys. Acta 50, 177 (1961).

110. WERLE, E.:
Über die Bildung von Histamin aus Histidin durch tierisches Gewebe.
Biochem. J. 288, 292 (1936).

111. WERLE, E. und W. LORENZ:
Histamin und Histidindecarboxylasen in Schilddrüse und Thymus.
Biochem. Pharmacol. 15, 1059 (1966).

112. WERLE, E. und A. SCHAUER:
Persönliche Mitteilung.

113. WERLE, E. und V. SCHIRREN:
Einfluß von Diaminoxydasegaben auf den anaphylaktischen Schock des Meerschweinchens.
J. ges. exp. Med. 138, 522 (1965).

114. WESTPHAL, O.:
Persönliche Mitteilung.

115. WESTPHAL, O., LÜDERITZ, O. und A.-M. STAUB:
Bacterial endotoxins.
J. pharm. Chem. 4, 497 (1961).

116. WHITE, T.:
Formation and catabolism of histamine in cat brain in vivo.
J. Physiol. 152, 299 (1960).

117. WIGGERS, C.F.:
Physiology of Shock.
Commonwealth Fund, New York 1950.

118. WINDAUS, A. und W. VOGT:
Synthese des Imidazolyläthylamins.
Ber. dt. chem. Ges. 40, 3691 (1907).

119. WOOD, W.B., jr.:
Pathogenesis of fever.
Triangel 5, 101 (1961).

120. WYMAN, L.C., FULTON, G.P. und M.J. SHULMAN:
Direct observations on the circulation in the hamster cheek pouch in adrenal insufficiency and experimental hypercorticalism.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 56, 643 (1953).

121. ZWEIFACH, B.W.:
Aspects of comparative physiology of laboratory animals to the problem of experimental shock.
Fed. Proc. 20, 18 (1961).

122. ZWEIFACH, B.W., BENACERRAF, B. und L. THOMAS:
The relationsip between the vascular manifestations of shock produced by endotoxin, trauma and hemorrhage.
II. The possible role of the reticuloendothelial system in resistance to each type of shock.
J. exp. Med. 106, 403 (1957).

123. ZWEIFACH, B.W., NAGLER, A.L. und L. THOMAS:
The role of epinephrine in the reactions produced by the endotoxins of gram-negative bacteria.
II. The changes produced by endotoxin in the vascular reactivity to epinephrine in the rat mesoappendix and the isolated, perfused rabbit ear.
J. exp. Med. 104, 881 (1956).

124. ZWEIFACH, B.W. und L. THOMAS:
The relationship between the vascular manifestations of shock produced by endotoxin, trauma and hemorrhage.
I. Certain similarities between the reactions in normal and endotoxin tolerant rats.
J. exp. Med. 106, 385 (1957).

Herrn Dozenten Dr. A. Schauer danke ich für die Überlassung des Themas, für seine Anleitung und für seine liebenswürdige Unterstützung.

Herrn Professor Dr. Dr. E. Werle danke ich für die großzügig gewährte Arbeitsmöglichkeit in seinem Institut und für die Einführung in die fluorometrische Methode.

Die Durchführung der Arbeit wurde durch Sachbeihilfen der Deutschen Forschungsgemeinschaft ermöglicht.

Lebenslauf.

Am 9.10.1941 wurde ich als einziges Kind des Arztes Dr. med. Lothar Gielow aus Stettin und seiner Ehefrau Lieselotte, geb. Karl, in München geboren. Seit Kriegsende ist mein Vater vermißt.

Ab September 1947 besuchte ich die Volksschule in München-Großhadern, die ich nach der vierten Klasse verließ. Von September 1951 bis Juli 1953 war ich Schüler des Humanistischen Gymnasiums in München-Pasing. Von der dritten Klasse ab ging ich als Internatsschüler an das Humanistische Gymnasium des Benediktinerklosters Scheyern/Obb. Dort bestand ich am 13. Juli 1960 die Reifeprüfung.

Im Wintersemester 1960/61 begann ich das Medizinstudium an der Universität München. Das Vorphysikum bestand ich im Sommersemester 1961, das Physikum im Wintersemester 1962/63. Der Beginn des klinischen Studiums erfolgte im Sommersemester 1963 ebenfalls in München. Hier bestand ich am 10. August 1966 mein Staatsexamen.

Von Oktober 1966 bis August 1967 war ich Medizinalassistent am Pathologischen Institut der Universität München, von August 1967 bis April 1968 war ich Pflichtassistent für Gynäkologie und Chirurgie am Kreiskrankenhaus Moosburg. Vom 15. Mai bis 15. November 1968 bin ich an der I. Medizinischen Klinik der Universität München tätig und schließe damit meine Medizinalassistentenzeit ab.